

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



ALTERAÇÕES ECOGRÁFICAS DA ÁRVORE BILIAR ASSOCIADAS À REALIZAÇÃO  
DE CULTURA DE BÍLIS: ESTUDO RETROSPECTIVO DE 22 CASOS

ANA RITA MARTINHO COSME

ORIENTADORA:  
Doutora Maria Teresa da  
Costa Mendes Victor Villa de Brito

TUTORA:  
Dra. Ana Sofia Teixeira Enes das Eiras



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



ALTERAÇÕES ECOGRÁFICAS DA ÁRVORE BILIAR ASSOCIADAS À REALIZAÇÃO  
DE CULTURA DE BÍLIS: ESTUDO RESTROSPETIVO DE 22 CASOS

ANA RITA MARTINHO COSME

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Maria Manuela  
Grave Rodeia Espada Niza

VOGAIS:

Doutora Maria Teresa da  
Costa Mendes Victor Villa de Brito  
Doutora Maria Rita Martins  
Garcia da Fonseca Pequito

ORIENTADORA:

Doutora Maria Teresa da  
Costa Mendes Victor Villa de Brito

TUTORA:

Dra. Ana Sofia Teixeira Enes das Eiras

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Ana Rita Martinho Cosme

Título da Tese ou Dissertação: "ALTERAÇÕES ECOGRÁFICAS DA ÁRVORE BILIAR ASSOCIADAS À REALIZAÇÃO DE CULTURA DE BÍLIS: ESTUDO RESTROSPETIVO DE 22 CASOS"

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas): 2021

Designação do curso de

Mestrado ou de

Doutoramento:

Mestrado integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

☒ Clínica

☐ Produção Animal e Segurança Alimentar

☐ Morfologia e Função

☐ Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

1. ☒ Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
2. ☐ Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de ☐ 6 meses, ☐ 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

1. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
2. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
3. DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 31 de Março de 2021

Assinatura:

Rita Martinho

## **Agradecimentos**

Quero agradecer, em primeiro lugar, à minha família por todo o apoio e amor incondicional desde o primeiro segundo. Aos meus avós, que tudo fizeram para que nada me faltasse em todos os aspetos, fizeram sempre chegar o seu apoio e o seu orgulho no meu percurso. Ao meu irmão, o melhor que podia ter, não só pelo apoio constante e pela cumplicidade partilhada, como por ser um exemplo a seguir e me incentivar sempre a tentar ser melhor. À minha mãe, embora tudo o que possa escrever seja sempre, inevitavelmente, curto, mas por seres uma força da natureza, um exemplo constante que o trabalho permite atingir qualquer sonho, por me teres acompanhado e guiado neste percurso como mais ninguém conseguiria. És a minha heroína, o maior agradecimento de todos é teu.

“Quem caminha na companhia de um bom amigo, certamente consegue ir mais longe”. Às minhas Pericats, o melhor que a faculdade me deu, é difícil imaginar a minha vida sem vocês, nem teria a mesma graça. Lisboa tornou-se a minha verdadeira segunda casa, muito por vossa culpa. Foi um orgulho ver-vos crescer, assim como vocês me viram crescer a mim. Obrigada por todas as conversas, todas as aventuras, passeios e férias, por duplicarem sempre a minha alegria e atenuarem a minha tristeza, enfim, por tudo!

Aos que me acompanharam desde o início, quando era apenas uma miúda tímida com dificuldade em se integrar e durante a transição me “adotaram” e acabaram por ficar. Um enorme obrigada aos meus padrinhos e aos meus amigos desde o 1º ano.

Às minhas afilhadas e afilhados, que significam o mundo para mim, pela confiança que depositaram em mim e pela amizade, forte e profunda, que ficará para sempre. Foram e serão sempre uma das partes mais importantes e marcantes do meu percurso académico e do meu trajar. Foi um orgulho ter-vos a meu lado.

À Rita, pela amizade inesquecível que partilhámos durante todos estes anos, que tornou mais fácil e tolerável qualquer desafio desta viagem louca. Obrigada por alinhares sempre comigo em todos os passeios, todas as brincadeiras, todos os almoços e jantares, por seres a minha companheira de todas as praxes, foi com um orgulho desmedido e alegria sincera que trajei tantas vezes contigo.

À Sofia, por ter uma paciência extraordinária para aturar todas as minhas neuras e momentos de dúvida, e por me dar o apoio final, que tanto precisei, para escrever esta dissertação. Foste incansável, obrigada por tudo.

À minha Ferreira, a minha leal companheira de curso, fomos “envelhecendo” juntas, fomos vendo os outros crescer, alguns foram embora, mas o nosso laço inquebrável nunca nos deixou cair, desde o primeiro ao último minuto, desde o “Sushi” até à entrega, cá estamos... Para sempre. Obrigada!

À minha orientadora, a professora Maria Teresa Villa de Brito, pela simpatia, disponibilidade e paciência durante o processo de redação e correção da presente dissertação de mestrado.

À minha tutora, a Dra. Ana Eiras, por ter sido incansável, pela simpatia, disponibilidade durante todo o meu estágio e após a sua finalização. Obrigada por me ter proporcionado uma aprendizagem incrível, tanto a nível prático, como teórico e social, por me dar oportunidade de realizar procedimentos novos, sempre com uma paciência admirável, por incentivar o meu gosto pela ecografia e pela ajuda, sempre preciosa, na correção desta dissertação.

Um agradecimento especial ao Hospital Veterinário do Restelo pela disponibilização da informação necessária à realização desta dissertação e à sua equipa, médicos, enfermeiros e auxiliares pela paciência em ensinar-me, pela alegria no trabalho e todos os bons momentos. Aos meus colegas estagiários pelos momentos partilhados, nunca faltou diversão. Um agradecimento especial ao Dr. Ricardo Medeiros, pelo gosto em ensinar e pela paciência e tempo dedicado à minha formação. Ao Dr. Pedro Diniz e Dra. Joana Sismeiro, pela ajuda nos contatos com os laboratórios.

Um agradecimento ao professor Telmo Nunes pela ajuda com a estatística.

Ao Apolo, à Missy e à Harley, por serem a melhor companhia que podia ter.

## Resumo

A ecografia abdominal é a modalidade imagiológica mais utilizada na avaliação de pequenos animais com suspeita de doença hepatobiliar. Com efeito, a ecografia da árvore biliar, mais especificamente, assume um papel de enorme relevância na tomada de decisão clínica, no que concerne à colheita de amostras biliares para citologia e/ou cultura bacteriana.

O objetivo principal deste estudo consistiu em avaliar a existência de associação entre alterações ecográficas da árvore biliar, considerando parâmetros ecográficos estabelecidos, com o resultado da cultura de biliar, avaliando ainda a frequência dessas alterações na população. Nos grupos (cão e gato), avaliou-se a frequência das alterações. Secundariamente, avaliou-se a prevalência de culturas positivas, na população e nos grupos, e os principais isolados bacterianos identificados.

Não se verificou associação estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ) entre as alterações ecográficas e o resultado da cultura biliar. Na população em estudo, as alterações ecográficas mais frequentes foram presença de sedimento biliar (81,8%), com imobilidade de sedimento (72,2%), espessamento da parede da vesícula biliar, alteração da ecogenicidade da parede da vesícula biliar e dilatação do ducto biliar comum (77,3%), e irregularidade da superfície luminal (72,7%). Com menos frequência, observou-se a presença de mucocelo biliar (31,8%) e, por fim, a presença de litíase biliar (13,6%) e a presença de outro conteúdo da vesícula biliar anormal (gás) (4,6%). As alterações de espessamento da parede da vesícula biliar, irregularidade da superfície luminal da vesícula biliar, alteração da ecogenicidade da parede da vesícula biliar, imobilidade do sedimento biliar e imagem de mucocelo biliar foram significativas entre grupos ( $p<0,05$ ). Verificou-se um maior número de alterações da árvore biliar nos cães relativamente aos gatos, com uma média de 6,3 alterações (cães) e 3,1 alterações (gatos) ( $p=0,001$ ).

A prevalência de culturas positivas na população total foi de 22,7%. Já considerando a espécie, a cultura foi positiva em 30,7% dos cães e em 11,1% dos gatos. Os isolados bacterianos identificados foram *Escherichia Coli* (40%), *Clostridium spp.* (20%), *Enterococcus spp.* (20%), *Salmonella spp.* (20%).

Alterações como espessamento da parede da vesícula biliar, ecogenicidade aumentada da parede da vesícula biliar, irregularidade da superfície luminal da vesícula biliar e sedimento biliar imóvel parecem ser importantes indicadores para realização de cultura biliar, dada a sua presença em casos positivos, apesar da sua baixa especificidade. Assim, a ecografia biliar constitui um passo importante na decisão de realização de uma cultura biliar, ainda que as alterações observadas não tenham mostrado associação com resultado da cultura.

**Palavras-chave:** ecografia biliar; cultura biliar; colecistocentese; vesícula biliar; árvore biliar

## Abstract

Abdominal ultrasound is an imaging modality frequently used in the evaluation of small animals with suspected hepatobiliary disease. Biliary tree ultrasound, specifically, plays an extremely important role in the clinical decision making process regarding the collection of bile samples for cytology and /or bacterial culture.

The main objective of this study was to evaluate the existence of an association between ultrasonographic findings of the biliary tree, considering established ultrasound parameters, with the result of the biliary culture. In doing so, also evaluating the frequency of these findings in the population. In the groups created (dog and cat), the frequency of changes was also evaluated. Secondly, the prevalence of positive cultures in the population and in each group was calculated, and the main bacterial isolates were identified.

There was no statistically significant association ( $p>0,05$ ) between ultrasonographic findings and the result of the culture. In this population, the most frequent findings were the presence of biliary sludge (81,8%), with immobility of the sludge (72,2%), thickening of the gallbladder wall, alteration of the echogenicity of the gallbladder wall and dilation of the common bile duct (77,3%), and luminal surface irregularity (72,7%). Less frequently, presence of gallbladder mucocele (31,8%) and, finally, the presence of gallstones (13,6%) and presence of other abnormal gallbladder content (gas) (4,6%). Changes in the thickness of the gallbladder wall, irregularity of the luminal surface of the gallbladder, alteration in the echogenicity of the gallbladder wall, immobility of the sludge and image of gallbladder mucocele were significant between groups ( $p < 0,05$ ). There were a greater number of changes in the biliary tree in dogs compared to cats, with an average of 6,3 changes (dogs) and 3,1 changes (cats) ( $p=0,001$ ).

The prevalence of positive cultures in the population was 22,7%. Considering the species, the culture was positive in 30,7% of dogs and in 11,1% of cats. The bacterial isolates identified were *Escherichia Coli* (40%), *Clostridium spp.* (20%), *Enterococcus spp.* (20%) and *Salmonella spp.* (20%).

Ultrasonographic findings such as thickening of the gallbladder wall, increased echogenicity of the gallbladder wall, luminal surface irregularity of the gallbladder and immobile sludge seem to be important indicators for performing a biliary culture, given their presence in positive cases, despite low specificity. Biliary ultrasound is an important step in the decision to perform a biliary culture, even though no association was shown between ultrasonographic findings and the result of the culture.

**Keywords:** biliary ultrasound; biliary culture; cholecystocentesis; gallbladder; biliary tree



## Índice Geral

Agradecimentos .....	i
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Lista de Figuras.....	vii
Lista de Tabelas.....	vii
Lista de Gráficos .....	vii
Lista de Abreviaturas e símbolos.....	viii
I – Estágio Curricular .....	1
1. Breve descrição das atividades desenvolvidas no estágio curricular .....	1
II - Revisão Bibliográfica.....	5
1. Anatomia da árvore biliar .....	5
2. Histofisiologia da árvore biliar .....	6
3. Microbiota biliar.....	8
4. Mecanismos de defesa biliar contra infecção .....	9
5. Infecções bacterianas da árvore biliar .....	10
5.1. Etiologia e epidemiologia .....	10
5.2. Diagnóstico .....	12
5.2.1. Sinais clínicos físicos.....	12
5.2.2. Sinais clínicos laboratoriais .....	13
5.2.2.1. Hemograma.....	13
5.2.2.2. Análises Bioquímicas.....	13
5.2.3. Análise de Urina tipo II .....	14
5.2.4. Fatores de coagulação .....	14
5.2.5. Exames Imagiológicos.....	14
5.2.5.1. Radiografia .....	14
5.2.5.2. Ecografia .....	14
5.2.6. Análise Microbiológica da bÍlis.....	15
5.2.6.1. Citologia .....	15
5.2.6.2. Cultura.....	16
5.2.7. Histopatologia.....	17
5.3. Tratamento.....	18
6. Ecografia do sistema hepatobiliar.....	19
6.1. Princípios básicos .....	19
6.2. Árvore biliar .....	20

6.2.1.	Aparência ecográfica normal da Vesícula Biliar e Ducto Biliar.....	20
6.2.2.	Aparência ecográfica na afeção biliar.....	20
6.2.2.1.	Anomalias congénitas.....	20
6.2.2.2.	Espessamento da parede da vesícula biliar.....	21
6.2.2.3.	Sedimento biliar.....	21
6.2.2.4.	Litíase biliar.....	22
6.2.2.5.	Colecistite e Colangite.....	22
6.2.2.6.	Mucocelo Biliar.....	23
6.2.2.7.	Rutura da vesícula biliar.....	24
6.2.2.8.	Obstrução biliar extra-hepática.....	24
6.2.2.9.	Neoplasia.....	25
6.3.	Colecistocentese percutânea ecoguiada.....	25
6.4.	Alterações ecográficas associadas a cultura biliar positiva.....	26
III –	Alterações ecográficas da árvore biliar associadas à realização de cultura de bÍlis: estudo retrospectivo de 22 casos.....	27
1.	Introdução.....	27
2.	Materiais e métodos.....	28
2.1.	Animais.....	28
2.1.1.	Critérios de inclusão.....	28
2.1.2.	Critérios de exclusão.....	28
2.2.	Historial clínico.....	29
2.3.	Ecografia.....	29
2.4.	Colheita Biliar.....	31
2.4.1.	Métodos de colheita.....	31
2.5.	Culturas de bÍlis.....	31
2.6.	Análise estatística.....	32
3.	Resultados.....	33
3.1.	Animais e a sua caracterização.....	33
3.1.1.	Cães.....	33
3.1.2.	Gatos.....	33
3.2.	Colheita das amostras.....	34
3.3.	Resultados das culturas.....	34
3.4.	Alterações ecográficas na população total.....	35
3.5.	Alterações ecográficas nos dois grupos.....	39

3.6. Alterações ecográficas relacionadas com o grupo .....	41
3.7. Associação entre as alterações ecográficas e o resultado da cultura biliar .....	44
4. Discussão .....	45
5. Conclusão.....	54
6. Referências bibliográficas .....	56

## Lista de Figuras

Figura 1: A: Anatomia de um lobo hepático B: Anatomia de um lóbulo hepático. Fonte: Colville and Basset (2016) .....	6
Figura 2: Classificação atribuída à alteração ecográfica da ecogenicidade da parede da VB na população.....	30
Figura 3: Classificação atribuída às alterações ecográficas na população em estudo.....	30
Figura 4: Alterações ecográficas observadas na população .....	36

## Lista de Tabelas

Tabela 1: Prevalência de culturas positivas nos dois grupos .....	35
Tabela 2: Associação entre o grupo e o sedimento biliar.....	41
Tabela 3: Associação entre o grupo e a litíase biliar.....	42
Tabela 4: Associação entre o grupo e a dilatação do DBC .....	42
Tabela 5: Associação entre o grupo e o espessamento da parede da VB .....	42
Tabela 6: Associação entre o grupo e a irregularidade da superfície luminal .....	42
Tabela 7: Associação entre grupo e mucocelo biliar.....	42
Tabela 8: Associação entre o grupo e as alterações de ecogenicidade da parede da VB ....	42
Tabela 9: Associação entre o grupo e a imobilidade do sedimento (sem casos de mucocelo) .....	43
Tabela 10: Número de alterações ecográficas nos cães considerando as 9 alterações possíveis .....	43
Tabela 11: Número de alterações ecográficas nos gatos considerando as 9 alterações possíveis .....	43
Tabela 12: Média das alterações em cada grupo e valor de <i>p</i> obtido .....	43
Tabela 13: Associação entre as alterações ecográficas e o resultado da cultura biliar .....	44

## Lista de Gráficos

Gráfico 1: Número de horas despendido por rotação durante o estágio curricular.....	2
Gráfico 2: Frequência absoluta das bactérias identificadas nas culturas positivas (n=5) .....	35

Gráfico 3: Frequência absoluta de cada alteração na população (n=22) .....	36
Gráfico 4: Frequência absoluta de cada alteração ecográfica em cada grupo (cães e gatos) .....	39
Gráfico 5: Frequência relativa da classificação da Ecogenicidade da parede da VB .....	40
Gráfico 6: Frequência relativa de cada alteração ecográfica em cada grupo .....	41

## **Lista de Abreviaturas e símbolos**

ALT - Aspartato Aminotransferase

AST - Alanina Aminotransferase

BHI - Brain heart infusion

BT – Bilirrubina Total

COS - Columbia agar (5% sheep blood)

DBC – Ducto Biliar Comum

FAS – Fosfatase Alcalina

FISH - Fluorescence in situ hybridization

FMV-Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

GGT – Gama Glutamil Transpeptidase

HVR – Hospital Veterinário do Restelo

IgA - Imunoglobulina A

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

IV – Intravenoso

kg – Quilograma

MCK - MacConkey agar

mg/kg – Miligrama por quilograma

MHz – Megahertz

ml – Mililitro

mm – Milímetro

OVH – Ovariohisterectomia

p – Probabilidade de significância

PAAF – Punção aspirativa por agulha fina

PCR - Polymerase Chain Reaction

S-IgA - Imunoglobulina A secretora

TC – Tomografia computadorizada

TSA – Teste de sensibilidade a antibióticos

VB – Vesícula Biliar

WSAVA - World Small Animal Veterinary Association

° C – Graus celsius

μ/kg – Micrograma por quilograma

## **I – Estágio Curricular**

### **1. Breve descrição das atividades desenvolvidas no estágio curricular**

No âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-ULisboa), o estágio curricular decorreu no Hospital Veterinário do Restelo (HVR), de 2 de setembro de 2019 a 11 março de 2020, num período aproximadamente de seis meses. O mês de março constituía já tempo adicional, no entanto, o estágio acabou interrompido devido à situação pandémica vivida no nosso país e mundialmente. A tutoria do estágio teve a supervisão da Dra. Ana Eiras.

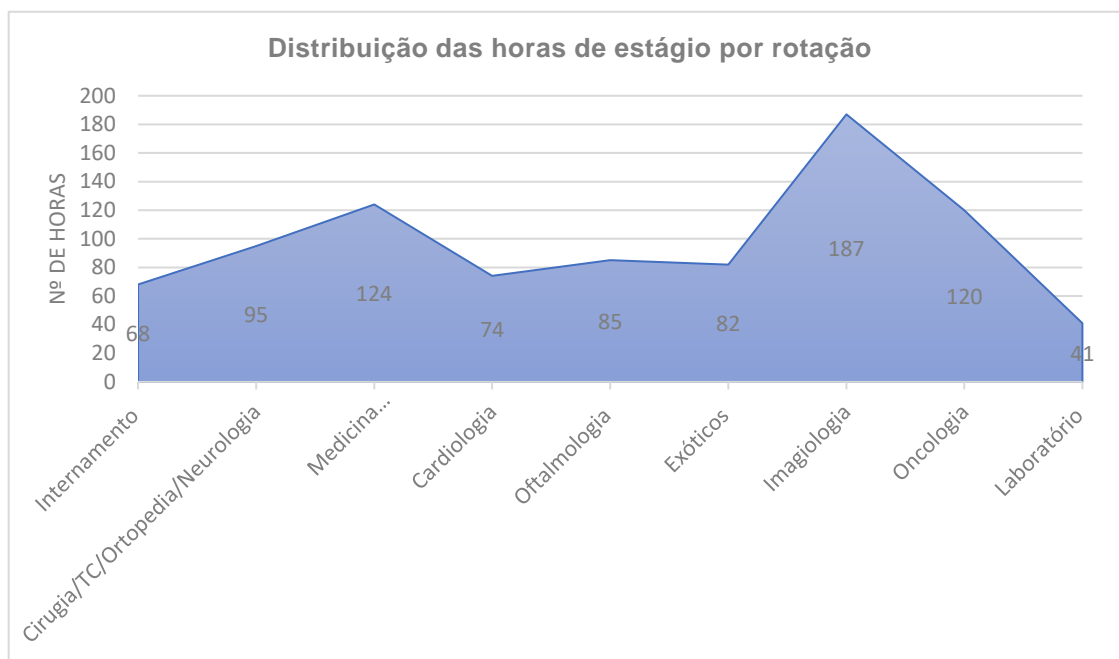
O HVR constitui um hospital veterinário de referência da zona de Lisboa, é dotado de uma equipa multidisciplinar, com conhecimento em todas as áreas de especialidade Médico-Veterinárias. A nível de recursos humanos, neste momento, é constituído por 31 Médicos Veterinários, 13 Enfermeiros Veterinários e 14 Auxiliares. Funciona em regime de 24 horas, com horário de urgência e dispõe dos seguintes serviços: Medicina Preventiva/Vacinação, Medicina Interna, Consulta de animais Exóticos, Anestesia e Cirurgia, Cardiologia, Gastroenterologia, Doenças Infetoco contagiosas, Dermatologia, Oftalmologia, Oncologia, Ortopedia, Reprodução/Obstetrícia, Neurologia, Odontologia, Geriatria, Imagiologia: Radiologia, Ecografia, Endoscopia, Tomografia Computorizada (TC), Internamento, Cuidados Paliativos, Fisioterapia, Medicinas alternativas/Acupuntura e um serviço de Terapias Dialíticas e de transfusões sanguíneas. Possui, ainda, um Laboratório de Patologia clínica.

A organização do estágio no HVR consistiu numa divisão em diversas áreas, fomentando uma aquisição de conhecimentos, ao mesmo tempo, globalizada e específica dentro de cada área. A divisão incluiu 10 rotações: Internamento, Cirurgia/Tomografia Computorizada, Medicina interna/Dermatologia/Geral, Cardiologia, Ortopedia/Neurologia, Oftalmologia, Exóticos, Imagiologia, Oncologia e Laboratório. A distribuição do número de horas em cada rotação está apresentada no Gráfico 1, no total, representa 876 horas de estágio.

Durante este período acompanhei os médicos de todas as áreas, no entanto, não dediquei uma rotação completa a Ortopedia/Neurologia por preferência na repetição de uma outra rotação. A aquisição de conhecimentos nessa área realizou-se na rotação de Cirurgia/Tomografia Computorizada, dada a polivalência dos médicos veterinários. Em cada uma das rotações era escolhido um médico para ser acompanhado pelo estagiário e o horário

realizado coincidia com o horário do médico selecionado. Cada médico era acompanhado apenas por um estagiário e a mudança de rotação era quinzenal.

**Gráfico 1: Número de horas despendido por rotação durante o estágio curricular**



Durante o período de estágio, o HVR promoveu diversas formações sobre várias temáticas: “Abordagem clínica em consulta”, “Exame Neurológico”, “Formação em ECO FAST Abdominal e Torácica”, “Pensos e Feridas”, “Protocolos Anestésicos” e “Eletrocardiograma”.

No serviço de internamento, o turno começava e terminava pela passagem de casos. A progressão de cada caso era, então, acompanhada e discutida entre médicos. As competências práticas mais básicas, nomeadamente contenção de animais, realização de exames físicos, colocação de cateteres e sondas, colheitas sanguíneas, realização de análises sanguíneas, administração de medicação, e realização de pensos foram frequentemente executadas durante esta rotação, sempre sob supervisão médica. Além destes procedimentos, acompanhei a realização de altas médicas e colaborei em procedimentos mais complexos como diálise peritoneal e transfusões sanguíneas.

No serviço de cirurgia/ tomografia computadorizada/ neurologia/ ortopedia, auxiliei os enfermeiros em tarefas pré-cirúrgicas: colocação de cateteres endovenosos, anestesia, colocação de tubo endotraqueal, tricotomia, assepsia e posicionamento do paciente. Tive oportunidade de observar uma grande diversidade de cirurgias e participar, como ajudante de cirurgião, em várias como ovariectomias, orquiectomias, enterotomias, laparotomias exploratórias, remoção de corpos estranhos, esplenectomias, nodulectomias, mastectomias, ventral slot e correção de hérnias de disco. Além das mencionadas, assisti e ajudei em destarizações e extrações dentárias. Assisti a consultas de ortopedia, muitos dos casos

envolveram a realização de radiografias em posicionamentos específicos (despiste de displasia da anca e cotovelo).

Na rotação no serviço de medicina interna, assisti tanto a consultas de rotina, vacinações e desparasitações, como a consultas de referência. Foram discutidos casos clínicos mais complexos apresentados em consulta, muitos deles com um extenso historial. Acompanhei consultas de diversas áreas como de gastroenterologia (principalmente), nefrologia, dermatologia, endocrinologia, entre outras. Durante esta rotação, assisti e auxiliei na realização de endoscopias para colheita de amostras.

No serviço de cardiologia, acompanhei diversas consultas de rotina e algumas referências. Assisti à realização de radiografias torácicas, eletrocardiogramas e, principalmente, de ecocardiografias. Cada caso era discutido, sendo delineada a terapêutica mais adequada em cada situação.

No serviço de oftalmologia, acompanhei várias consultas, assisti à realização de exames oftalmológicos completos. Assisti, ainda, ao desbridamento de úlceras indolentes com recurso à ponta de diamante e a zaragatoas. Para cada caso, discutiam-se os principais diagnósticos diferenciais e as terapêuticas mais adequadas. Nesta rotação, assisti, ainda, a cirurgias como resolução de cataratas, *flaps* conjuntivais, remoção de nódulos palpebrais, enucleações e transposições córneo-conjuntivais.

No serviço de exóticos, assisti a diversas consultas de pequenos mamíferos (como por exemplo, coelhos, furões, porquinhos-da-índia) e, ainda, de répteis e aves. Auxiliei na realização de exames físicos, colheita de amostras sanguíneas, realização de análises e administração de medicação. Para além destes procedimentos, assisti a imagens de dentes e a intervenções em situações de urgência.

No serviço de imagiologia, participei essencialmente na realização de ecografias abdominais. As alterações ecográficas encontradas em cada caso eram discutidas e valorizadas de acordo com a sua relevância clínica. Para além disso, acompanhei e realizei colheitas de urina por cistocentese, preparei materiais e assisti à realização de punções aspirativas por agulha fina (PAAF), acompanhei processos de drenagem, principalmente abdominocenteses e, algumas vezes, toracocenteses. Além das ecografias, ajudei na realização de inúmeras radiografias, tanto abdominais como torácicas, em que, novamente, as alterações imagiológicas eram discutidas. Foi-me permitida ainda a realização de ecografias, acompanhada, por forma a ganhar sensibilidade e prática na realização deste exame.

No serviço de oncologia, assisti a primeiras consultas e consultas de seguimento de doentes oncológicos, acompanhando a sua evolução, nas quais auxiliei em exames físicos, colheitas sanguíneas, realização de análises, muitas vezes, para avaliação prévia à realização de quimioterapia. Durante a rotação, foi incentivado e promovido o estudo de várias



neoplasias para posterior discussão dos conhecimentos adquiridos, e discussão de protocolos quimioterápicos. Foi-me, ainda, solicitado o cálculo de doses de quimioterápicos, de forma a familiarizar-me com estes procedimentos.

Por fim, no serviço de laboratório, familiarizei-me com técnicas de coloração e preparação de esfregaços em lâmina para observação microscópica. Assim, realizei e interpretei inúmeros esfregaços sanguíneos. Observei inúmeras citologias, dos mais variados tecidos, mais frequentemente de baço e de fígado. A sua observação promovia a discussão da imagem visualizada com o médico, o que permitiu um aprofundamento dos meus conhecimentos na observação de citologias. Relativamente a amostras cuja análise não se realizava no HVR, preparei, muitas vezes, o seu envio para laboratórios externos.

A presente divisão do estágio permitiu o acompanhamento de diversos profissionais, facilitou a aquisição de conhecimentos em diferentes áreas e a familiarização com vários métodos de trabalho. Reforçou igualmente a importância de cada membro numa equipa, bem como a importância da boa comunicação e do trabalho de equipa no ótimo funcionamento de um hospital veterinário. Além do acompanhamento dos médicos, sempre que possível, acompanhei enfermeiros e auxiliares na realização de tratamentos e prestação de cuidados básicos.

Os seis meses no HVR promoveram tanto um crescimento a nível pessoal, como a nível de conhecimento teórico e prático. O maior número de horas no serviço de imagiologia e o particular interesse por ecografia, sempre estimulado por uma equipa de enorme qualidade nesta área, foi um fator de influência na seleção do tema desta dissertação de mestrado.

## II - Revisão Bibliográfica

### 1. Anatomia da árvore biliar

O fígado é a maior glândula do corpo, conjugando funções metabólicas, endócrinas e exócrinas. A bÍlis, o seu produto exócrino, é armazenada na vesícula biliar até ser libertada no duodeno. Diversas substâncias endócrinas são libertadas na corrente sanguínea, exercendo funções no metabolismo de lípidos, de carboidratos e produtos nitrogenados (Evans and Lahunta 2013). As variações de tamanho do fígado, entre espécies, são explicadas pelas suas funções metabólicas, sendo os valores médios aproximadamente 3-5% do peso corporal dos carnívoros, 2-3% em omnívoros e 1-1,5% em herbívoros (Singh 2018).

A bÍlis é produzida pelos hepatócitos e é posteriormente libertada nos canalículos biliares. Os canalículos biliares são delimitados pela membrana plasmática de dois hepatócitos. A membrana canalicular representa um componente especializado da membrana do hepatócito, anatomicamente delimitado por “*tight junctions*” ou junções de oclusão (Center 2009). Os canalículos biliares unem-se formando dúctulos biliares que continuam até se formarem os dúctulos interlobulares, os quais se localizam no espaço intersticial entre lóbulos, no espaço portal, juntamente com a artéria hepática e a veia porta. Os ductos interlobulares formam-se pela anastomose destes dúctulos, e estes, por sua vez, unem-se para formar os ductos lobares intra-hepáticos, variáveis em número e terminação, e formam, posteriormente, ductos extra-hepáticos, designados por ductos hepáticos (Evans and Lahunta 2013).

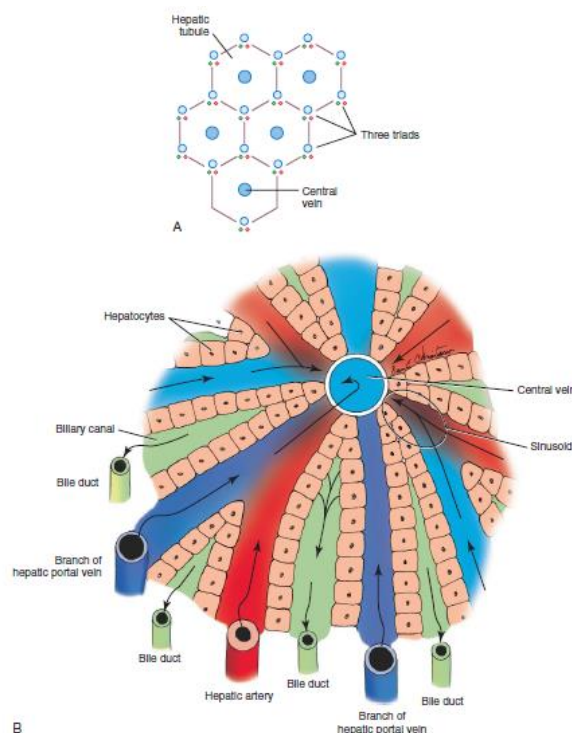
A vesícula biliar (VB) apresenta uma forma em pêra, e localiza-se entre o lobo quadrado e o lobo medial direito. A porção cranial da VB, de forma arredondada, é denominada fundo (“*fundus*”), a porção média é designada como corpo (“*body*”) e a última porção, afilando-se na extremidade, é designada como colo (“*neck*”) (Evans and Lahunta 2013). A VB não é essencial, na medida em que em várias espécies é inexistente (Singh 2018) e a colecistectomia é, geralmente, bem tolerada. A sua perfusão arterial deriva apenas da artéria cística (ramo esquerdo da artéria hepática), o que torna a VB e o ducto biliar comum (DBC) particularmente suscetíveis a isquemia e a necrose (Center 2009). O ducto cístico estende-se desde a zona do colo da VB até à junção do primeiro ducto hepático. Após esta junção, o canal que transporta a bÍlis até ao duodeno passa a designar-se de ducto biliar (Evans and Lahunta 2013). As variações neste sistema são comuns. Assim, alguns ductos hepáticos podem entrar diretamente na VB, enquanto outros podem unir-se distalmente ao ducto cístico (Singh 2018).

A comunicação do DBC e o duodeno é anatomicamente distinta no cão e no gato. Num cão de porte médio, o DBC tem aproximadamente 5 cm de comprimento e 2,5 mm de diâmetro e entra no duodeno a cerca de 1,5 a 6 cm de distância do piloro, na papila duodenal maior. Na junção com o duodeno, o DBC realiza um trajeto intramural de 2 cm, abrindo-se, depois,

na proximidade do ducto pancreático menor. O ducto pancreático acessório abre-se no duodeno, alguns centímetros distalmente (Center 2009). O DBC no gato é mais longo e tortuoso. Nesta espécie, o ducto biliar funde-se com o ducto pancreático, antes da sua entrada na papila duodenal, caudalmente ao piloro. Nalguns gatos, o ducto pancreático maior abre-se separadamente, mas adjacente ao DBC. Em 20% dos gatos, a aproximadamente 2 cm, caudalmente à papila duodenal maior, entra o ducto pancreático acessório, que se abre na papila duodenal menor (Etue et al. 2001, Center 2009). Esta diferença anatômica possibilita que doenças inflamatórias, neoplásicas ou obstrutivas do DBC distal possam afetar a árvore biliar e o pâncreas (Center 2009).

## 2. Histofisiologia da árvore biliar

O componente estrutural básico do fígado é o hepatócito. Os hepatócitos estão agrupados em placas interconectadas, sendo que, nos espaços entre placas, existem capilares, os sinusoides hepáticos. O seu conteúdo sanguíneo advém da veia porta hepática e da artéria hepática. A disposição em placa e a proximidade das membranas plasmáticas dos hepatócitos permite a criação de um espaço, designado canalículo biliar. A bÍlis, que circula nestes canalículos, desloca-se em sentido contrário ao fluxo sanguíneo, afastando-se da veia centrolobular (Figura 1), onde é libertada nos dúctulos biliares de maior dimensão e finalmente no ducto interlobular, no espaço porta (Timperman 2016).



**Figura 1: A: Anatomia de um lobo hepático B: Anatomia de um lóbulo hepático. Fonte: Colville and Basset (2016)**

## **2.1. BÍLIS**

A bÍlis desempenha um papel fundamental na digestão lipídica e respetiva absorção. É, ainda, uma via de excreção para diversos metabolitos e xenobióticos, assim como é uma fonte de bicarbonato, permitindo a neutralização do conteúdo duodenal (Center 2009; Washabau 2013).

A bÍlis é composta principalmente por ácidos biliares, fosfolípidos e colesterol. Em adição à composição principal, a bÍlis contém outras substâncias orgânicas lipossolúveis. Dentro destas substâncias, a que se encontra em maior concentração são os pigmentos biliares. O principal pigmento biliar é a bilirrubina, cuja produção ocorre em situações normais de *turnover* de eritrócitos. Este pigmento confere a cor característica da bÍlis, e quando esta atinge o ambiente intestinal é convertida, pelas bactérias, noutras substâncias. Os pigmentos biliares não apresentam funções digestivas, sendo a bÍlis e as fezes, as principais vias da sua excreção (Herdt and Sayegh 2013).

A composição da bÍlis sofre alterações ao longo do seu trajeto nos ductos biliares, através de processos de absorção ou secreção. Podem ser adicionados ou removidos eletrólitos e água. Deste modo, a composição eletrolítica da bÍlis canalicular pode ter uma concentração inferior em cloreto e a sua concentração em bicarbonato é, frequentemente, mais elevada do que no plasma, devido à sua libertação pelos ductos (Herdt and Sayegh 2013).

### **2.1.1. Ácidos Biliares**

Os ácidos biliares são produzidos através do colesterol, no retículo endoplasmático liso do hepatócito, e constituem a principal via de excreção de colesterol (Rothuizen 2009). O colesterol é uma molécula totalmente insolúvel em água, no entanto, a alteração química envolvida na conversão desta molécula em ácidos biliares resulta numa molécula com uma porção hidrossolúvel (hidrofílica) e uma porção lipossolúvel (hidrofóbica). A função dos ácidos biliares é a emulsificação dos lípidos da dieta e solubilização dos produtos da digestão lipídica (Herdt and Sayegh 2013). Os principais ácidos biliares primários são o ácido cólico e o ácido quenodesoxicólico. Antes da sua secreção, estes ácidos são conjugados com taurina ou glicina, no caso do cão, e, no caso do gato, são unicamente conjugados com taurina (Center 2009).

## **2.2. Vesícula Biliar**

Na ausência de estimulação neuronal ou hormonal, a VB encontra-se relaxada e o esfíncter de Oddi contraído, neste caso, a bÍlis é desviada para a VB, a qual desempenha, assim, funções de reservatório biliar (Rothuizen 2009). O volume normal da VB em cães é menor ou igual a 1 ml/kg de peso corporal (Ramstedt et al. 2008). Nos gatos, o volume normal

aproximado da VB é 2,4 ml (Penninck et al. 2010). O seu epitélio é ativo, absorvendo sódio, cloreto e bicarbonato biliar, seguindo-se a absorção passiva de água. Desta forma, os constituintes da bÍlis são concentrados, juntamente com uma redução do volume biliar (Herdt and Sayegh 2013).

### **2.3. Mecanismos de regulação**

A distensão gástrica, a presença de ácidos gordos livres e de aminoácidos no quimo, iniciam a estimulação vagal, a libertação de colecistoquinina e de motilina por parte do duodeno. Esta ação coordenada permite a libertação pós-prandial de bÍlis para o duodeno. A principal ação da colecistoquinina é a estimulação da contração da VB e o relaxamento do esfíncter de Oddi. Os ácidos biliares efetuam uma circulação entero-hepática altamente eficiente. Auxiliam a digestão e absorção de lípidos no jejuno, mas só são absorvidos no íleo. Posteriormente, são transportados pela circulação portal até ao fígado, onde são absorvidos na quase sua totalidade. Por esta razão, em condições normais, a sua concentração na circulação sistémica é mínima. Após a sua absorção, voltam a fazer parte da bÍlis, sendo de novo libertados no duodeno (Center 2009; Timperman 2016).

Os ácidos biliares, que chegam ao fígado através da circulação portal, perpetuam a síntese biliar de ácidos biliares. A síntese biliar é estimulada para absorção de ácidos biliares no fígado, formando um mecanismo de feedback positivo. Este mecanismo inicia-se quando a VB contrai e a rápida síntese e secreção de bÍlis permanece, enquanto o esfíncter de Oddi se mantiver aberto e a VB contraída. Após a digestão e absorção de lípidos, o estímulo da colecistoquinina é removido, promovendo o fecho do esfíncter de Oddi e o desvio da bÍlis para a VB. Assim, os ácidos biliares não chegam ao duodeno, por sua vez, não são absorvidos e o estímulo para a secreção biliar reduz, assim como o fluxo biliar. Em adição ao efeito da colecistoquinina na secreção biliar, a secretina desempenha, também, um papel importante, nomeadamente na estimulação da secreção bicarbonato por parte do epitélio biliar (Center 2009; Herdt and Sayegh 2013; Timperman 2016).

### **3. Microbiota biliar**

No que diz respeito às culturas biliares de animais saudáveis, tem existido ao longo dos anos algumas divergências de resultados. No homem, a VB e a bÍlis são normalmente estéreis (Csendes et al. 1975). Em gatos saudáveis também é sugerido a esterilidade biliar (Savary-Bataille et al. 2003). Em contrapartida, um estudo revelou a existência de culturas biliares positivas num grupo controlo de cães saudáveis, contrariando a ideia de esterilidade nesta espécie (Kook et al. 2010), levantando a hipótese de presença de bacteriobilia transitória e autolimitada em cães saudáveis. De facto, a ausência de inflamação em citologias de cães com bacteriobilia levanta a possibilidade de uma colonização transitória, em

detrimento de verdadeira infecção (Peters et al. 2016). No entanto, esta ausência inflamatória também se verifica em cães clinicamente doentes, na presença de bacteriobilia (Neel et al. 2006; Crews et al. 2009; Ramery et al. 2012). Anteriormente, e respeitante à realização de culturas hepáticas num grupo de cães saudáveis, verificou-se, igualmente, presença bacteriana, no entanto, sem correlação com alterações histológicas hepáticas nestes animais. Os resultados deste estudo sugerem que cães saudáveis podem apresentar população bacteriana no parênquima hepático (Niza et al. 2004).

Já Center (2012) sugere que a bacteriobilia pode apresentar-se clinicamente silenciosa até à ocorrência de obstrução biliar, levantando a hipótese que o refluxo (biliar-venoso) resultante desta ocorrência, poderá levar a sépsis e à manifestação clínica de doença. Assim, a autora propôs, ainda, que, na ausência de obstrução biliar ou litíase, a VB ou a bÍlis não apresentam crescimento em cultura.

#### **4. Mecanismos de defesa biliar contra infecção**

A árvore biliar está equipada com vários mecanismos que têm por objetivo manter a sua esterilidade. Os mecanismos anatómicos são representados por duas barreiras de elevada importância na defesa contra os agentes bacterianos, as junções oclusivas e o esfíncter de Oddi. As junções oclusivas situam-se lateralmente nos canalículos biliares, permitindo o seu isolamento relativamente aos sinusoides hepáticos. A sua integridade constitui um componente essencial na prevenção da entrada de bactérias na árvore biliar. O esfíncter de Oddi separa o duodeno, colonizado, da árvore biliar, não colonizada, atuando como uma barreira à colonização bacteriana. Constitui uma zona de elevada pressão que previne o refluxo de conteúdo duodenal em direção à árvore biliar (Sung et al. 1992).

Um dos mecanismos físicos de maior importância no sistema biliar é um fluxo biliar. Este fluxo resulta de uma secreção ativa de solutos seguida, naturalmente, de uma entrada de água nos canalículos biliares. Os ácidos biliares constituem um elemento fundamental para o fluxo biliar. A mucina, que forma um gel insolúvel que adere às superfícies mucosas, e o fluxo biliar são importantes componentes físicos na prevenção da colonização e na eliminação de microrganismos e detritos biliares (Sung et al. 1992).

Os ácidos biliares constituem um fator químico com efeitos inibitórios na proliferação entérica de microrganismos. Desempenham um papel importante no controlo da flora bacteriana gastrointestinal e esta ação pode ter influência na prevenção de infeções da árvore biliar. As suas propriedades bacteriostáticas estão relacionadas com a sua hidrofobicidade e a propriedade de detergente (Sung et al. 1992).

Também existem as barreiras imunológicas que incluem as células de Kupffer e a imunoglobulina A (IgA). As células de Kupffer estão localizadas estrategicamente no interior dos sinusoides hepáticos. A sua elevada importância reside na sua capacidade de remoção

de substâncias tóxicas, endotoxinas e bactérias através da fagocitose, que chegam ao fígado pela circulação portal. As células de Kupffer têm ainda funções de células apresentadoras de antígeno para indução de resposta por parte dos linfócitos T (Sung et al. 1992; Center 2012). A imunoglobulina predominante na biliar é a imunoglobulina A secretora (S-IgA). As imunoglobulinas G e M (IgG e IgM) estão presentes em quantidades inferiores. A importância do componente secretor reside na prevenção da digestão proteolítica da IgA no tubo digestivo (Center 2012). A IgA possui capacidade de ligação a microrganismos, limitando a sua mobilidade e prevenindo a sua adesão à membrana mucosa. A S-IgA demonstrou, adicionalmente, a capacidade de neutralizar toxinas bacterianas (Zhang et al. 2018).

## **5. Infecções bacterianas da árvore biliar**

O tecido hepático, devido às suas características anatómicas, nomeadamente posição estratégica e dualidade de suprimento sanguíneo (veia porta hepática e artéria hepática), apresenta uma exposição constante a substâncias (por exemplo, detritos particulados com origem intestinal, toxinas, microrganismos) provenientes da circulação sistêmica e esplâncica. A sua proteção contra infecções pode ser comprometida em qualquer situação que envolva alterações hepáticas (Center 2012). No que diz respeito a infecções biliares, os fatores que interferem com os mecanismos de defesa, anteriormente mencionados, podem predispor ao aparecimento destas infecções. A colestase, o aumento da pressão biliar, o aumento da circulação entero-hepática de bactérias (por aumento da sua circulação no sistema portal ou devido a situações de estase biliar), a presença de doenças concomitantes ou exposição a agentes imunossupressores, constituem situações que podem provocar alterações nestes mecanismos, e, deste modo, aumentar a suscetibilidade do animal a infecções oportunistas (Sung et al. 1991; Sung et al. 1992; Tamborini et al. 2016; Radlinsky and Fossum 2019). As infecções da árvore biliar estão principalmente associadas a colangite e/ou colecistite, abordadas seguidamente, embora possam desenvolver-se secundariamente a colelitíase (Ward et al. 2020), mucocelo biliar (Besso et al. 2000) e obstrução biliar (Wagner et al. 2007; Crews et al. 2009), entre outras.

### **5.1. Etiologia e epidemiologia**

As infecções bacterianas hepatobiliares ocorrem ocasionalmente em gatos e são menos frequentes em cães (Sykes 2014). Pensa-se que o principal mecanismo envolvido é a infecção ascendente da árvore biliar, proveniente do tubo digestivo, ou através de translocação bacteriana (Brain et al. 2006; Callahan Clark et al. 2011; Twedt et al. 2014; Tamborini et al. 2016). No entanto, a distribuição bacteriana relatada através da técnica *Fluorescence in situ hybridization* (FISH) apoia a colonização através de translocação entérica ou por via hematogénica (Twedt et al. 2014).

A colangite é uma doença inflamatória biliar mais frequente em gatos, do que em cães (Webb 2017). O termo colangite é utilizado como termo preferencial relativamente a colangiohepatite, pois o envolvimento do parênquima hepático não está sempre presente e, quando o está, deve-se a uma extensão da colangite primária (van den Ingh et al. 2006).

A World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) estabeleceu orientações para o diagnóstico clínico e histológico da colangite, tanto felina como canina. Assim, a classificação da colangite apresenta quatro grupos: colangite neutrofílica, colangite linfocítica, colangite destrutiva e, por fim, colangite crônica. Estas subclassificações são baseadas no tipo de infiltrado celular, no grau de fibrose periportal, na presença de lesões destrutivas nos ductos biliares e na evidência de parasitas (van den Ingh et al. 2006).

A colangite neutrofílica é, na maioria dos estudos, a doença hepatobiliar inflamatória mais comum no gato (Callahan Clark et al. 2011; Hirose et al. 2014; Bayton et al. 2018). A presença de doenças concomitantes é comum, em particular pancreatite e doença inflamatória intestinal (Weiss et al. 1996; Callahan Clark et al. 2011; Peters et al. 2016; Boland and Beatty 2017; Harrison et al. 2018). Apesar da presença de bactérias estar mais associada a colangite neutrofílica, a sua presença pode ser detetada em situações de colangite linfocítica (Otte et al. 2012). A etiologia desta última permanece pouco esclarecida, mas é sugerida uma origem imunomediada (Day 1998; Warren et al. 2011; Otte et al. 2012). A colangite neutrofílica afeta, principalmente, gatos jovens ou até meia idade segundo Callahan Clark et al. (2011) e Bayton et al. (2018).

No cão, a colangite é uma doença pouco frequente, uma vez que, nesta espécie, as doenças inflamatórias hepáticas afetam primordialmente o parênquima (Webb 2017). Recentemente, num estudo com 54 cães com colangite, Harrison et al. (2018) classificaram a maioria das biópsias hepáticas da população como colangite neutrofílica, 98,1%. A colangite neutrofílica afeta cães de meia idade, de porte médio, sem predominância de raça, segundo o mesmo estudo. Recentemente, tem sido sugerido que a colangite/colangiohepatite, com ou sem colecistite concomitante, ocorre mais frequentemente (Malek et al. 2013; Hirose et al. 2014; Tamborini et al. 2016) do que o estimado anteriormente (O'Neill et al. 2006).

Os principais mecanismos propostos no acesso bacteriano às vias biliares são os anteriormente mencionados (O'Neill et al. 2006a; Harrison et al. 2018). No entanto, nos 54 casos de colangite neutrofílica estudados por Harrison et al. (2018), apenas metade das culturas foram positivas, tornando pouco claro o papel bacteriano como principal causa.

As afeções da VB, especialmente colecistite e a obstrução da árvore biliar, ocorrem, frequentemente, em conjunto com a colangite (Brain et al. 2006; O'Neill et al. 2006; Tamborini et al. 2016; Harrison et al. 2018). Harrison et al. (2018) sugerem a possibilidade de doença da VB ser uma causa de desenvolvimento de colangite, embora esta associação não tenha sido estabelecida.



A colecistite é a afeção inflamatória da VB, que pode ser aguda ou crónica. A sua origem não é completamente compreendida. A inflamação da VB pode envolver processos supurativos ou não supurativos, associados a agentes infecciosos, doenças sistémicas ou neoplasia, pode ainda refletir situações traumáticas ou de obstrução da VB (Center 2009). A maioria dos casos de colecistite está associada a situações que resultam em estase biliar e, consequentemente, exposição continuada do epitélio biliar aos ácidos biliares, os quais ficam concentrados na VB e exercem um efeito citotóxico, como é o caso, por exemplo da obstrução do DBC, da dismotilidade da VB e do mucocelo biliar (Center 2009; Center 2012).

A colecistite neutrofílica é frequente em gatos, mas é rara em cães, e, geralmente, está associada a infeção bacteriana. Pode estar presente de forma única ou em combinação com colangite (van den Ingh et al. 2006). Os gatos apresentam maior suscetibilidade a colecistite bacteriana do que os cães, devido às suas diferenças anatómicas. No entanto, a patogénese desta afeção permanece ainda pouco esclarecida (Lawrence et al. 2015). As situações obstrutivas do sistema biliar, como alterações congénitas, colelitíase ou neoplasia, podem representar fatores de predisposição para colecistite e colangite neutrofílica no gato (Brain et al. 2006).

As bactérias predominantemente isoladas em casos de colecistite bacteriana são de origem entérica, tal como na colangite (Brain et al. 2006; Neel et al. 2006; Lawrence et al. 2015; Tamborini et al. 2016). No entanto, em 2020, um estudo sobre a prevalência e a influência da colecistite em cães com mucocelo biliar, não identificou associação entre colecistite e culturas positivas (Rogers et al. 2020).

A potencial inter-relação entre colangite bacteriana e colecistite ainda não foi totalmente esclarecida, no entanto, alguns estudos sugerem uma possível relação etiológica entre as duas, devido à apresentação de fatores predisponentes semelhantes e à presença concomitante das duas situações, em diversos casos (O'Neill et al., 2006; Tamborini et al., 2016; Harrison et al., 2018).

A colecistite enfisematosa é uma complicação rara de colecistite aguda, com presença de microrganismos produtores de gás. A presença de gás implica uma inflamação séptica, associada à presença de *Eschericia coli* (*E.coli*) e *Clostridium* (Neer 1992; Armstrong et al. 2000; Neel et al. 2006; Center 2009). A presença gasosa pode verificar-se na parede ou no lúmen da VB ou dos segmentos biliares (Aguirre 2017).

## **5.2. Diagnóstico**

### **5.2.1. Sinais clínicos físicos**

Os sinais clínicos relacionados com doença biliar, detetados no exame físico, são bastante inespecíficos e são semelhantes a outras afeções abdominais (Neer 1992). Assim,

os principais sinais clínicos associados a infecções hepatobiliares são vômito, hiporexia ou anorexia, perda de peso, diarreia e letargia (Brain et al. 2006; O'Neill et al. 2006; Callahan Clark et al. 2011; Lawrence et al. 2015; Tamborini et al. 2016; Harrison et al. 2018). Nalguns casos, os animais podem apresentar-se desidratados, piréticos, ictericos, com dor abdominal e ascite. Já Brain et al. (2006) verificaram a presença de ptialismo e taquipneia em gatos com colangite e colecistite. Também, Tamborini et al. (2016) registaram ainda presença de poliúria/polidipsia num grupo de cães com a mesma afeção. Não obstante, outros animais podem ser assintomáticos (Lawrence et al. 2015). A duração dos sinais clínicos é variável, podendo estes surgir de forma aguda ou crônica e, por vezes, de forma intermitente (Brain et al. 2006; O'Neill et al. 2006; Tamborini et al. 2016; Harrison et al. 2018).

## **5.2.2. Sinais clínicos laboratoriais**

### **5.2.2.1. Hemograma**

O hemograma pode demonstrar presença de leucocitose associada a neutrofilia, muitas vezes com desvio à esquerda ou presença de neutrófilos tóxicos, e, por vezes, monocitose (Brain et al. 2006; O'Neill et al. 2006; Callahan Clark et al. 2011; Tamborini et al. 2016; Harrison et al. 2018). A leucopenia, sendo menos frequente, já foi observada na colangite felina (Brain et al. 2006). A anemia constitui outra alteração que pode estar presente (Brain et al. 2006; Callahan Clark et al. 2011; Harrison et al. 2018). Não obstante, podem ainda existir casos sem quaisquer alterações (Brain et al. 2006).

### **5.2.2.2. Análises Bioquímicas**

A elevação das enzimas hepáticas constitui uma alteração frequente nas doenças hepatobiliares. A elevação da alanina aminotransferase (ALT) e da fosfatase alcalina sérica (FAS) são alterações frequentes no perfil bioquímico de animais com colangite e/ou coleciste (Brain et al. 2006; O'Neill et al. 2006; Callahan Clark et al. 2011; Lawrence et al. 2015; Tamborini et al. 2016; Harrison et al. 2018). Pode ainda verificar-se elevação da gama-glutamil transpeptidase (GGT) (Lawrence et al. 2015) e da aspartato aminotransferase (AST) (Brain et al. 2006; Harrison et al. 2018). Esta última é descrita, por Callahan Clark et al. (2011), como o dado mais consistente nos gatos diagnosticados com colangite. No entanto, animais com colangite ligeira a moderada podem apresentar-se sem alterações de ALT, FAS e GGT (Callahan Clark et al. 2011).

A concentração de bilirrubina total (BT) constitui outro parâmetro que, frequentemente, está elevado (Brain et al. 2006; O'Neill et al. 2006; Callahan Clark et al. 2011; Lawrence et al. 2015; Tamborini et al. 2016; Harrison et al. 2018), assim como a concentração de colesterol

(Brain et al. 2006; O'Neill et al. 2006; Tamborini et al. 2016; Harrison et al. 2018; Ward et al. 2020).

As alterações eletrolíticas podem estar presentes, contudo, podem ser secundárias a perdas gastrointestinais em animais com vômito e diarreia (Sykes 2014).

### **5.2.3. Análise de Urina tipo II**

Nos animais com infecções hepatobiliares, a análise de urina tipo II, pode não ter alterações ou apresentar apenas a presença de bilirrubinúria (Eich and Ludwig 2002; Brain et al. 2006).

### **5.2.4. Fatores de coagulação**

As alterações dos fatores de coagulação, como aumento do tempo de protrombina e o aumento do tempo de tromboplastina parcial ativada, podem estar presentes em cães e gatos com infecções hepatobiliares (Sykes 2014).

### **5.2.5. Exames Imagiológicos**

#### **5.2.5.1. Radiografia**

O exame radiográfico tem uma utilidade limitada para o diagnóstico de afeções que afetem a árvore biliar. As alterações com mineralização, visualizadas através deste exame, podem indicar uma mineralização distrófica associada a malformações congénitas, assim como uma inflamação crónica do ducto ou uma colelitíase (Center 2009). Em casos de colangite ou colecistite, é, também, possível visualizar hepatomegalia (O'Neill et al. 2006). Em casos de colelitíase, os cálculos podem não ser visíveis, na medida em que podem ser radiotransparentes (Nyland et al. 2015). Já a presença de gás na região biliar pode alertar para processos enfisematosos (Armstrong et al. 2000; Center 2009).

É importante referir que os animais com infecções hepatobiliares podem apresentar perda de detalhe abdominal, no quadrante direito superior ou difusamente, em todo o abdómen, em casos onde ocorra rutura biliar e, por vezes, peritonite biliar, associada a derrame peritoneal (Crews et al. 2009).

#### **5.2.5.2. Ecografia**

A avaliação ecográfica em animais com suspeita de doença hepatobiliar constitui uma parte importante no plano de diagnóstico destes animais. Em contraste com doenças parenquimatosas e neoplásicas, o diagnóstico de doenças da árvore biliar não depende somente da avaliação histopatológica, mas também, principalmente, da ecografia (van den Ingh et al. 2006). Por vezes, as alterações observadas ecograficamente, embora não

específicas, podem alertar para a necessidade de uma intervenção cirúrgica ou colheita de bÍlis e respetiva cultura (Tamborini et al. 2016).

As alterações ecográficas abdominais, nas doenças associadas a infeções biliares, são semelhantes nos cães e nos gatos e podem incluir hepatomegalia, uma ecotextura alterada, um aumento homogéneo ou heterogéneo de ecogenicidade do parênquima, uma vasculatura portal proeminente, uma dilatação da VB, um espessamento e ecogenicidade aumentada da parede da VB, bem como a presença de sedimento/lamas biliares (Brain et al. 2006; O'Neill et al. 2006; Callahan Clark et al. 2011; Marolf et al. 2012; Tamborini et al. 2016; Harrison et al. 2018). Num estudo de colecistite bacteriana e bacteriobilia, a imobilidade do sedimento apresentou uma sensibilidade de 70% e especificidade de 100% para diagnóstico de bacteriobilia num grupo de cães (Lawrence et al. 2015). A parede da VB pode, ainda, apresentar-se irregular e conter lesões polipoides (Sykes 2014). Outras alterações observáveis são distensão da árvore biliar, associada a certa tortuosidade do ducto cístico ou DBC (Brain et al. 2006; O'Neill et al. 2006; Callahan Clark et al. 2011; Marolf et al. 2012; Tamborini et al. 2016; Harrison et al. 2018).

Tal como mencionado no exame anterior, pode verificar-se presença de litÍase, representada pela observação de estruturas hiperecogénicas, bem delimitadas, associadas a sombra acústica (Eich and Ludwig 2002; Ward et al. 2020). Assim como presença de gás em casos de colecistite enfisematosa (Armstrong et al. 2000). A presença de indÍcios ecográficos de doença inflamatória intestinal e de pancreatite também podem surgir associados a colangite (Callahan Clark et al. 2011; Marolf et al. 2012; Harrison et al. 2018).

## **5.2.6. Análise Microbiológica da bÍlis**

### **5.2.6.1. Citologia**

A avaliação citológica fornece informações complementares à cultura biliar, sendo uma análise clinicamente relevante em casos de suspeita de doença hepatobiliar (Peters et al. 2016; Pashmakova et al. 2017). Com efeito, num estudo foi demonstrada a sua utilidade no diagnóstico em, aproximadamente, 30% dos casos (Byfield et al. 2017).

A avaliação citológica da bÍlis, cuja colheita se pode efetuar através de colecistocentese percutânea ecoguiada ou intra-cirúrgica, em animais com suspeita de doença hepatobiliar, pode demonstrar populações bacterianas singulares ou mistas, com presença ou ausência de células inflamatórias degeneradas (Brain et al. 2006; Neel et al. 2006). Peters et al. (2016) verificaram que a maioria dos cães com bacteriobilia, incluídos no seu estudo, não apresentava sinais citológicos de inflamação associada. Em 2017, num novo estudo (Pashmakova et al. 2017), incluindo cães e gatos, os resultados de avaliações microscópicas revelaram presença de bacteriobilia mas, maioritariamente, na ausência de

células inflamatórias, tal como anteriormente. Peters et al. (2016) verificaram ainda que, comparativamente à espécie canina, os gatos apresentavam alterações inflamatórias, com maior frequência. Também, Brain et al. (2006) detetaram estas alterações num pequeno estudo com seis gatos com colecistite ou colangite neutrofílica.

A avaliação citológica de amostras biliares é uma parte integrante de vários estudos, mas a percentagem relativa de observação de bactérias apresenta alguma variação. Dois estudos realizados com cães e gatos encontraram valores de 17% em 201 citologias (Schiborra et al. 2017) e 33% em 52 citologias (Pashmakova et al. 2017). Noutros estudos, nas amostras biliares de cães, observou-se a presença de bactérias em 24% em 59 amostras e, em gatos, 22% em 81 amostras (Peters et al. 2016) e 14% em 71 amostras (Byfield et al. 2017).

As principais discrepâncias entre citologia e cultura biliar estão relacionadas maioritariamente com o crescimento de um único microrganismo em cultura, apesar da avaliação microscópica sugerir a existência de uma população mista e, ainda, da presença de bactérias na citologia, mas sem crescimento em cultura (Peters et al. 2016; Byfield et al. 2017; Schiborra et al. 2017). Apesar das diferenças descritas, existe concordância substancial entre os dados microscópicos e as culturas biliares, relativamente a deteção de bacteriobilia, sobretudo, segundo Pashmakova et al. (2017), se não tiver existido a administração de antibióticos dentro das 24 horas anteriores à colheita biliar.

#### **5.2.6.2. Cultura**

A colecistocentese permite a colheita de amostras biliares para a realização de culturas biliares, quer em aerobiose, quer em anaerobiose. Alguns estudos apoiam a teoria que a bacteriobilia deve ser considerada um diagnóstico diferencial em animais com sinais associados a doença da árvore biliar. Assim, a realização de culturas constitui um exame complementar de extrema relevância na avaliação destes animais, contribuindo para o diagnóstico e para a escolha de uma terapêutica adequada a cada caso (Lawrence et al. 2015; Tamborini et al. 2016). Além disso, já foi descrito o isolamento de um agente raro, como *Providencia rettgeri* (Newton and Fry 2018), realçando a importância da identificação do agente.

A importância da realização de culturas em condições anaeróbias tem vindo a ser demonstrada pelo crescimento de organismos anaeróbios em culturas biliares (Lawrence et al. 2015; Tamborini et al. 2016). De facto, Wagner et al. (2007) verificaram que em 36% de culturas positivas, 26% foram devidas a organismos anaeróbios. Não obstante, outros estudos não identificaram a sua presença (Byfield et al. 2017) ou a sua frequência foi inferior (10,7%) (Harrison et al. 2018).

A realização simultânea de culturas hepáticas e biliares permite a sua comparação. Na maioria dos estudos verifica-se que a frequência de resultados positivos nas culturas biliares é superior relativamente às culturas hepáticas (Wagner et al. 2007; Byfield et al. 2017). Wagner et al. (2007) observaram a existência de uma percentagem de 30% de resultados positivos em culturas biliares, em comparação com 7% de culturas hepáticas, quer no cão, quer no gato. Já Byfield et al. (2017) revelaram percentagens de 14% (10/71) e 3% (1/29), numa população de gatos. Em contrapartida, Harrison et al. (2018) não registaram diferenças significativas no seu grupo de cães com colangite.

Neste contexto, Wagner et al. (2007) também verificaram a existência de diferenças entre cães e gatos relativamente às percentagens de culturas singulares e mistas. Os gatos apresentaram maior percentagem de culturas singulares (83%), enquanto que no cão existiu maior divisão entre os dois tipos (48%). Recentemente, Policelli Smith et al. (2017) não verificaram estas diferenças, sendo que, 75% dos casos, entre cães e gatos, apresentaram apenas um isolado. Verificaram, no entanto, que os resultados positivos foram mais comuns em gatos do que em cães.

Até hoje, os estudos realizados apresentam uma grande variação, relativamente aos valores percentuais de culturas biliares positivas em grupos de animais com suspeita de doença hepatobiliar, estando os valores situados entre 19% e 28%, em cães (Wagner et al. 2007; Peters et al. 2016; Policelli Smith et al. 2017; Schiborra et al. 2017) e 14% e 36%, em gatos (Wagner et al. 2007; Peters et al. 2016; Byfield et al. 2017; Policelli Smith et al. 2017; Schiborra et al. 2017).

As bactérias mais frequentemente identificadas através de cultura biliar são predominantemente de origem entérica, como *Eschericia coli* e *Enterococcus spp.* (Brain et al. 2006; Wagner et al. 2007; Lawrence et al. 2015; Peters et al. 2016; Tamborini et al. 2016; Byfield et al. 2017; Pashmakova et al. 2017; Policelli Smith et al. 2017; Schiborra et al. 2017; Harrison et al. 2018). Os agentes anaeróbios mais frequentemente descritos são *Bacterioides spp.* e *Clostridium spp.* Todavia, nos mesmos estudos, são identificadas, com frequência variável, outras bactérias dos géneros: *Actinomyces*, *Bacillus*, *Campylobacter*, *Citrobacter*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Listeria*, *Parabacteroides*, *Pasteurella*, *Peptostreptococcus*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*.

### 5.2.7. Histopatologia

No exame histopatológico, cães e gatos com colangite neutrofílica apresentam uma variação na gravidade, na cronicidade e na extensão ao parênquima hepático (O'Neill et al. 2006; Callahan Clark et al. 2011; Tamborini et al. 2016; Harrison et al. 2018). Callahan Clark et al. (2011) relataram casos de gatos com presença de lipidose hepática concomitante e,

ainda, uma pequena percentagem de gatos com obstrução parcial ou completa resultante de inflamação, neoplasia ou colelitíase. A colangite neutrofílica nem sempre produz alterações histopatológicas típicas e estas podem não se encontrar uniformemente distribuídas pelo tecido hepático (van den Ingh et al. 2006; Callahan Clark et al. 2011).

Os achados histopatológicos da parede da VB em gatos e cães com colecistite podem revelar hiperplasia da mucosa e espessamento, assim como uma inflamação neutrofílica ou linfoplasmocitária da parede da VB (Eich and Ludwig 2002; O'Neill et al. 2006; Tamborini et al. 2016; Harrison et al. 2018). A colecistite neutrofílica pode estar presente isoladamente ou em combinação com colangite neutrofílica (Tamborini et al. 2016; Harrison et al. 2018).

### **5.3. Tratamento**

O tratamento de colangite e colecistite consiste, geralmente, num tratamento de suporte e na administração de antimicrobianos. Os animais com colecistite necrosante ou enfisematosa apresentam uma situação mais grave, razão pela qual necessitam de tratamento cirúrgico, nomeadamente a realização de uma colecistectomia. A colecistectomia está, também, indicada nos casos de colecistite não responsiva ao tratamento ou nos casos em que existe recidiva após tratamento, assim como em casos de mucocelo biliar, de rutura da VB, de neoplasia primária e, casos mais graves, de colelitíase (Youn et al. 2018; Radlinsky and Fossum 2019; Ward et al. 2020).

A escolha do antimicrobiano pode ser feita de forma empírica ou com base na cultura e no teste de sensibilidade a antibióticos (TSA). Os antibióticos utilizados empiricamente devem ter um largo espectro de ação, permitindo a cobertura de bactérias gram-positivas, gram-negativas, assim como bactérias anaeróbias e, ainda, devem atingir uma concentração adequada na bília (Wagner et al. 2007; Tamborini et al. 2016; Forman 2017). As substâncias mais utilizadas são as penicilinas sintéticas como a ampicilina, associação de amoxicilina e ácido clavulânico e metronidazol (Brain et al. 2006; Forman 2017). Nos estudos realizados, a duração da terapêutica sugerida foi de dois meses, mas a duração ideal não está bem documentada, isto é, tem uma duração variável (Forman 2017). Brain et al. (2006) administraram antibióticos, com sucesso, durante 4 a 6 semanas, em gatos com colangite/colelitíase. No entanto, em casos de bacteriobilia ou colecistite bacteriana em cães, estudados por Lawrence et al. (2015), o tempo médio de tratamento foi de 5 meses.

Um aumento significativo de resistências aos antimicrobianos tem sido descrito em vários estudos (O'Neill et al. 2006; Timofte et al. 2011; Lawrence et al. 2015; Tamborini et al. 2016). Para além da situação descrita, também se verificou, pela realização de culturas sequenciais, o desenvolvimento de resistências ao longo do tempo de tratamento (Tamborini et al. 2016). Lawrence et al. (2015) verificaram, ainda, que a administração prévia de antibióticos estava associada a um aumento significativo da probabilidade de bacteriobilia.

Nestes casos, a resolução dos sinais clínicos nem sempre se traduz numa resolução da bacteriobilia (O'Neill et al. 2006; Lawrence et al. 2015), realçando a importância da realização de colecistocentese sequencial, com avaliação citológica e cultura biliar.

No que diz respeito ao tratamento de suporte, este inclui a administração de fluidoterapia, com fluídos cristaloides endovenosos, o suporte nutricional parenteral ou enteral, a administração de ácido ursodesoxicólico, de S-adenosilmetionina, antieméticos, antiácidos e, ainda, suplementação parenteral de vitamina K (Radlinsky and Fossum 2019).

## **6. Ecografia do sistema hepatobiliar**

A ecografia tornou-se uma ferramenta imagiológica essencial na avaliação do fígado. De facto, é extensamente utilizada na avaliação de pequenos animais com suspeita de doença hepatobiliar (Lidbury and Steiner 2013; Nyland et al. 2015). Este exame permite uma avaliação do parênquima hepático, veias hepáticas e portais e da árvore biliar. As principais indicações para a realização deste exame são hepatomegalia, massas hepáticas, pesquisa de metástases, deteção de shunts portossistémicos, icterícia, febre de origem desconhecida, perda de peso, dor abdominal, ascite ou situações de trauma (Nyland et al. 2015; Larson 2016). Importa salientar que, para além da avaliação ecográfica, a ecografia permite realizar procedimentos ecoguiados, nomeadamente, processos de drenagem e colheita das amostras para posterior avaliação citológica, histológica (Lidbury and Steiner 2013; Larson 2016) e ainda acompanhar a resposta ao tratamento em situações inflamatórias ou neoplásicas (Nyland et al. 2015). Um exame ecográfico abdominal completo é recomendado para avaliação de cada animal, no entanto, esta secção aborda de forma mais aprofundada a ecografia da árvore biliar.

### **6.1. Princípios básicos**

A avaliação ecográfica realiza-se, normalmente, com o animal em decúbito dorsal ou lateral (Nyland et al. 2015). A avaliação com o animal em estação ou em decúbito esternal pode ajudar a reposicionar o gás presente no estômago, permitindo a melhor visualização do fígado. De facto, o gás constitui uma dificuldade à realização de uma avaliação ecográfica de excelência. Em animais com quantidades excessivas de gás, peito profundo ou microhepatia, a avaliação hepática através dos espaços intercostais pode ser útil (Nyland et al. 2015; Penninck and D'Anjou 2015). A abordagem intercostal direita pode ser necessária para otimizar a visualização da veia cava caudal, veias hepáticas, veias porta, DBC e linfonodos da zona da porta hepatis. A capacidade de visualização do fígado, em pequenos animais, está relacionada com a conformação corporal, tamanho hepático e conteúdo gastrointestinal (Penninck and D'Anjou 2015).



## **6.2. Árvore biliar**

O exame ecográfico da árvore biliar é utilizado para avaliar alterações estruturais da VB, avaliar a presença de inflamação e/ou de litíase, associada tanto à vesícula como ao ducto. Constitui, ainda, um exame fundamental na avaliação situações obstrutivas biliares extra-hepáticas e de neoplasia (Nyland et al. 2015).

### **6.2.1. Aparência ecográfica normal da Vesícula Biliar e Ducto Biliar**

A VB é visualizada como uma estrutura anecogénica, redonda ou oval, de tamanho variável, acompanhada, comumente, por reforço acústico posterior (Nyland et al. 2015; Penninck and D'Anjou 2015). Ocasionalmente, pode ser visualizada uma vesícula bilobada, sendo uma variação normal em gatos (Moentk and Biller 1993). O conteúdo da VB é anecoico, mas pode ser observado sedimento móvel, dependente, ecogénico, sem sombra acústica, em cães saudáveis (Brömel et al. 1998). Nalgumas situações, este sedimento pode aparentar alguma agregação, mimetizando uma massa (Penninck and D'Anjou 2015).

Em circunstâncias normais, o DBC canino não é visualizado de forma consistente (Center 2009). No caso do gato, não se verifica esta situação, sendo o DBC frequentemente identificado como uma estrutura tubular, localizada entre o duodeno e a veia porta, dorsalmente e ventralmente, respetivamente. Esta estrutura pode ser seguida até à papila duodenal (Penninck and D'Anjou 2015; Larson 2016).

### **6.2.2. Aparência ecográfica na afeção biliar**

#### **6.2.2.1. Anomalias congénitas**

As anomalias congénitas biliares são um achado pouco frequente. No entanto, a presença de vesículas bilobadas ("*Bilobed Gallbladder*"), apesar de rara, é mais frequente em gatos. Esta alteração surge durante o desenvolvimento embrionário e é considerado um achado incidental (Moentk and Biller 1993). Existem dois tipos, um deles apresenta um septo longitudinal que separa a vesícula em duas câmaras, que comunicam na zona proximal e se ligam a um único ducto cístico, a aparência externa da vesícula é normal, neste caso. O segundo tipo apresenta uma divisão completa do fundo vesicular, com junção das duas câmaras apenas na zona do colo da vesícula, antes da saída do ducto cístico, resultando numa aparência externa em "V". A vesícula dupla ("*Duplex Gallbladder*") envolve duas câmaras separadas, cada uma ligada a um ducto cístico, e é menos frequente em relação à vesícula bilobada (Moores and Gregory 2007; Woods et al. 2012; Griffin 2019).

A dilatação quística dos ductos intrahepáticos biliares tem sido descrita em cães, associadas, com frequência, a doença poliquística renal (Görlinger et al. 2003). Esta afeção causa dilatação dos ductos biliares e pode constituir um fator de predisposição para colangite

bacteriana e formação de litos (Nyland et al. 2015). Em gato, esta alteração congénita associada a uma malformação na placa ductal é extremamente rara (Roberts et al. 2018).

A agenesia da VB é uma alteração extremamente rara, relatada em cão. Caracteriza-se pela ausência de VB sem atresia do sistema biliar extra-hepático. Neste caso, pode até verificar-se uma dilatação normal e não obstrutiva do DBC (Sato et al. 2018). Esta alteração deve ser diferenciada de fibrose severa da VB, que impede a sua normal visualização, uma vez que não permite a sua normal distensão (Nyland et al. 2015).

#### **6.2.2.2. Espessamento da parede da vesícula biliar**

A parede da VB, em condições normais, é de difícil visualização. Observa-se como uma fina linha ecogénica. A espessura da parede está dependente da angulação do feixe e do grau de distensão biliar (Nyland et al. 2015).

Os valores normais correspondem a valores inferiores a 1 mm no gato (Hittmair et al. 2001). Em cão, as medições descritas apresentam alguma variação, inferior a 1 mm (Nyland et al. 2015; Penninck and D'Anjou 2015), entre 1 a 2 mm (McAllister and Kealy 2011), entre 2 a 3 mm (Spaulding 1993). A aparência ecográfica do espessamento da parede pode apresentar-se em camada, padrão "*double rim*", com uma zona central mais hipoecogénica, circundada por duas finas camadas hiperecogénicas, em casos de edema, ou pode apresentar um espessamento difuso, irregular e hiperecogénico. A visualização ecográfica de líquido perivesicular pode, por vezes, ser confundida com a aparência em "*double rim*" do espessamento parietal (Nyland et al. 2015; Penninck and D'Anjou 2015; Larson 2016; Larson 2020).

O espessamento parietal da VB é uma alteração ecográfica pouco específica. A sua presença pode estar relacionada com doenças primárias da VB (colecistite ou colangite/colangiohepatite) ou ser resultante de um envolvimento secundário em doenças sistémicas. Pode ocorrer secundariamente a hepatite, a pancreatite, a insuficiência cardíaca congestiva, a hipertensão portal, a hipoalbuminémia, a septicémia, a anafilaxia e a neoplasia (Nyland et al. 2015; Larson 2016; Larson 2020). Um espessamento focal da parede pode ser visualizado em casos de neoplasia, hiperplasia mucinosa quística e colecistite (Larson 2016).

#### **6.2.2.3. Sedimento biliar**

Designa-se por sedimento biliar o material ecogénico que se acumula no lúmen da VB (Nyland et al. 2015), sendo um achado muito comum em cães (Cook et al. 2016). A sua composição consiste em conglomerados de bilirrubinato de cálcio e colesterol suspensos em bílis, rica em mucina (Pazzi et al. 2003; Center 2009). A presença de sombra acústica distal pode ser indicativa de presença de cálculos, pelo que, o reposicionamento do animal ou leve

agitação do transdutor pode ser benéfica para a sua avaliação (Nyland et al. 2015; Penninck and D'Anjou 2015). Cook et al. (2016) indicaram uma prevalência deste achado de 66,5%, um valor superior aos obtidos em estudos anteriores (35-57%) (Brömel et al. 1998; Secchi et al. 2012; Demonaco et al. 2016). A idade constitui um fator de influência, pois a sua presença é muito marcada em animais seniores (Brömel et al. 1998; Secchi et al. 2012; Cook et al. 2016). Também, a presença de endocrinopatias como hiperadrenocorticism e hipotireoidismo estão significativamente associadas com a presença substancial de sedimento biliar (Cook et al. 2016). A sua presença verifica-se tanto em animais com afeções hepatobiliares, como em animais saudáveis. Anteriormente, considerava-se um mero achado incidental (Brömel et al. 1998), mas, posteriormente, demonstrou-se que, na sua presença, ocorre alteração da fração de ejeção da VB e um aumento do seu volume, comparativamente a cães saudáveis (Tsukagoshi et al. 2012). A presença de sedimento biliar em gatos pode ser preditiva de um aumento das enzimas hepáticas e da BT, mas também pode ser encontrado sem evidência de afeção biliar (Harran et al. 2011).

#### **6.2.2.4. Litíase biliar**

A colelitíase (interior da VB) e a coledocolitíase (interior do ducto biliar e ductos periféricos) são considerados achados incidentais, tanto em cães como em gatos (Larson 2016; Ward et al. 2020). Contudo, a obstrução biliar secundária à sua presença pode ocorrer, especialmente em gatos (Nyland et al. 2015). Os cálculos visualizam-se ecograficamente como focos com contornos definidos, hiperecogénicos, associados a sombra acústica distal (Nyland et al. 2015; Penninck and D'Anjou 2015; Larson 2016). A sombra acústica distal é mais evidente em cálculos de maior dimensão e elevado teor em cálcio (Center 2009; Nyland et al. 2015). A mobilidade destes cálculos deve ser testada através do reposicionamento do animal, provocando a sua deslocação para a porção dependente da VB (Nyland et al. 2015).

A sua localização na árvore biliar é variável. No entanto, a localização mais comum é na VB (Center 2009; Kanemoto et al. 2017; Ward et al. 2020). A litíase nos ductos biliares é uma causa relativamente comum de obstrução extra-hepática em gatos, localizando-se principalmente na porção distal do DBC, na proximidade ou na papila duodenal (Gaillot et al. 2007).

#### **6.2.2.5. Colecistite e Colangite**

A colecistite aguda apresenta uma grande variedade de aparências ecográficas. A observação de um espessamento da parede biliar, presença de sedimento biliar e litíase biliar são achados variáveis. Durante o exame ecográfico, alguns animais podem demonstrar o

designado sinal de Murphy (ao exercer pressão na zona da VB, o animal demonstra sinais de desconforto e dor) (Nyland et al. 2015).

Na colecistite enfisematosa podem observar-se focos ecogénicos associados a um artefacto de reverberação, representando gás na parede da VB (Larson 2016). O gás intraluminal localiza-se na zona não dependente da VB, permitindo a sua diferenciação de outros achados (sedimento e litíase) (Nyland et al. 2015). A colecistite necrosante é outra forma de colecistite aguda, caracterizada pela presença de marcada irregularidade da parede, juntamente com espessamento, podendo ser assimétrico, ou uma parede descontínua com presença de fluído perivesicular e gordura hiperecogénica (Center 2009).

A colecistite crónica apresenta-se de forma menos aguda. Ecograficamente, pode estar presente um espessamento parietal, simétrico ou assimétrico. Em casos mais graves, a inflamação e fibrose associadas podem dificultar a localização da VB, uma vez que impede a sua distensão normal (Nyland et al. 2015).

No caso da colangite, a avaliação ecográfica pode não demonstrar alterações (Marolf et al. 2012). Relativamente ao fígado, este pode apresentar-se normal, aumentado, hipoecogénico, hiperecogénico; neste último caso, podem estar associadas outras doenças hepáticas como lipidose hepática. Outras alterações que se podem apresentar nesta afeção são espessamento da parede da VB, sedimento biliar, colelitíase ou coledocolitíase e espessamento, tortuosidade e dilatação do DBC. Concomitantemente, podem existir alterações noutros órgãos, como pancreatite e doença inflamatória intestinal (Center 2009; Callahan Clark et al. 2011; Marolf et al. 2012; Harrison et al. 2018).

#### **6.2.2.6. Mucocelo Biliar**

O mucocelo biliar é definido como uma distensão da VB resultante de uma acumulação anormal de bÍlis espessa e/ou mucina, semissólida no lúmen da VB (Besso et al. 2000; Pike et al. 2004; Aguirre et al. 2007; Choi et al. 2014). É uma doença importante em cães, sendo menos comum nos gatos dado esta espécie possuir um menor número de glândulas secretoras de mucina (Nyland et al. 2015; Larson 2020). Tipicamente afeta cães mais velhos, de pequeno a médio porte, sendo uma importante causa de obstrução biliar, com possibilidade de desenvolvimento de necrose e rutura da VB (Besso et al. 2000; Pike et al. 2004). Esta doença afeta cães de diferentes raças, no entanto, é mais comum em determinadas raças como Pastor de Shetland, Cocker Spaniel, Schnauzer miniatura, Spitz alemão e Chihuahua e Border Terrier (Pike et al. 2004; Aguirre et al. 2007; Gookin et al. 2015; Allerton et al. 2018). A sua incidência em animais com hiperadrenocorticism, hipotireoidismo e hiperlipidemia é elevada (Mesich et al. 2009; Kutsunai et al. 2014; Gookin et al. 2015). Diversos estudos sugerem que existe uma associação com colecistite (Besso et al. 2000; Aguirre et al. 2007).

De facto, um estudo relatou uma prevalência de 28,8% (63/219) de colecistite em cães com mucocelo biliar (Rogers et al. 2020).

O mucocelo biliar é diagnosticado quando ocorre distensão da VB por uma quantidade excessiva de sedimento ecogénico, imóvel, organizado e centralizado (Nyland et al. 2015; Larson 2016). A dilatação do DBC pode estar presente devido a obstrução decorrente deste conteúdo biliar anormal. À medida que a sua formação vai progredindo, desenvolve-se um padrão estrelado de bílis ecogénica, designado padrão “*kiwi*” (Besso et al. 2000; Pike et al. 2004; Choi et al. 2014; Jaffey et al. 2018). Choi et al. (2014) dividiu a classificação em seis tipos, tendo verificado que os mais comuns foram o padrão tipo 2 e 3, um padrão estrelado incompleto e padrão estrelado típico (“*type 2, incomplete stellate pattern; type 3, typical stellate pattern*”). A parede da VB pode apresentar-se espessada, hiperecogénica e irregular devido a edema, inflamação ou necrose (Penninck and D’Anjou 2015).

#### **6.2.2.7. Rutura da vesícula biliar**

A sensibilidade e especificidade da ecografia na identificação de rutura da VB apresenta alguma variabilidade. Em animais com mucocelo biliar, os valores de sensibilidade relatados situam-se entre 56% e 85,7% e de especificidade entre 91,7% e 100% (Pike et al. 2004; Choi et al. 2014; Jaffey et al. 2018). Um estudo com maior variedade de afeções apresentou valores de 94,4% e 44,4%, respetivamente (Crews et al. 2009).

A rutura da VB pode ser secundária a uma grande variedade de doenças biliares, nomeadamente, na sequência de situações inflamatórias, infecciosas, obstrutivas e traumáticas (Ludwig et al. 1997). Os sinais ecográficos de rutura da VB incluem descontinuidade da parede ou incapacidade de confirmar a sua continuidade, gordura hiperecogénica na periferia da vesícula, presença de líquido adjacente à vesícula e efusão peritoneal (Besso et al. 2000; Pike et al. 2004; Crews et al. 2009; Choi et al. 2014), e, em alguns casos, a presença de um mucocelo em protusão na parede ou livre na cavidade peritoneal (Burchell et al. 2019).

#### **6.2.2.8. Obstrução biliar extra-hepática**

A obstrução biliar extra-hepática resulta numa dilatação retrógrada da árvore biliar (Nyland and Gillett 1982). Com obstrução completa, a VB e o ducto cístico distendem num período de 24 horas, seguidos de distensão progressiva do DBC, dentro de 48 horas. Após este período, continua a dilatação progressiva do DBC e ocorre dilatação dos ductos hepáticos, nos próximos 3 a 4 dias, seguida de dilatação dos ductos intra-hepáticos aos 7 dias (Larson 2016). No cão, um dos primeiros indicadores de obstrução completa é a distensão marcada da VB (Nyland et al. 2015). Este achado é menos comum no gato, uma vez que,

estudos realizados demonstraram variações nesta observação, com valores entre 38% e 62% (Mayhew et al. 2002; Buote et al. 2006; Gaillot et al. 2007). Em comparação com animais em jejum ou com anorexia, a zona do colo vesicular apresenta-se mais volumosa e tortuosa na consequência de situações obstrutivas (Nyland et al. 2015). Múltiplas estruturas anecogénicas, tortuosas e irregulares são observadas, sem sinal de doppler (Center 2009; Larson 2016). Nos gatos com obstrução biliar foi descrita dilatação dos ductos intra-hepáticos, sem dilatação dos ductos extra-hepáticos em 30% dos casos (Gaillot et al. 2007).

No cão, as causas mais comuns de obstrução incluem pancreatite, mucocelo biliar e neoplasia pancreática, duodenal, hepática ou do DBC. No gato, situações neoplásicas ou inflamatórias biliares, pancreáticas ou duodenais e litíase são as mais comuns (Mayhew et al. 2002; Gaillot et al. 2007). No entanto, corpos estranhos, granulomas, abscessos, linfadenopatias em estruturas adjacentes podem levar à obstrução do DBC (Nyland et al. 2015). No caso de obstrução incompleta ou em estadio inicial pode não ser visível dilatação. Em contrapartida, a dilatação do DBC pode tornar-se persistente após a resolução da obstrução (Mayhew et al. 2002; Larson 2016).

#### **6.2.2.9. Neoplasia**

As neoplasias biliares só são facilmente reconhecidas caso estejam limitadas à parede da VB, pois a sua aparência é muito variável e dificilmente se diferencia de outras neoplasias hepáticas (Nyland et al. 2015). Em gatos seniores, os cistoadenomas e cistoadenocarcinomas apresentam tipicamente uma aparência quística. A sua aparência pode ser variável, podendo estar presentes massas solitárias ou multifocais contendo quistos de paredes finas, massas hiperecogénicas ou de ecogenicidade mista com componentes quísticas (Nyland et al. 1999; Center 2009).

### **6.3. Colecistocentese percutânea ecoguiada**

A colecistocentese é um procedimento que tem vindo a adquirir uma utilização com maior regularidade em hospitais de pequenos animais (Peters et al. 2016). Constitui uma parte importante de um plano diagnóstico e, posteriormente, de um plano terapêutico, de cães e gatos, que se apresentam com sinais de doença hepatobiliar, pois permite a obtenção de amostras para cultura e citologia. Este procedimento pode ser realizado de forma percutânea, com auxílio ecográfico ou durante um procedimento laparoscópico ou uma laparotomia exploratória (Byfield et al. 2017).

Existem duas abordagens que podem ser utilizadas na realização de colecistocentese percutânea ecoguiada: a abordagem transhepática e a punção direta da VB (Mattoon et al. 2015). Porém, é um procedimento minimamente invasivo, associado a baixa percentagem de

complicações, tanto em animais saudáveis (Vörös et al. 2002; Savary-Bataille et al. 2003; Kook et al. 2010) como animais com suspeita de afeção hepatobiliar (Peters et al. 2016; Byfield et al. 2017; Policelli Smith et al. 2017; Schiborra et al. 2017). Um estudo, realizado numa população de gatos com suspeita de doença hepatobiliar, apresentou uma taxa de complicação de 17%, ainda assim, sem ocorrência de rutura biliar, peritonite biliar e hipotensão com necessidade de intervenção médica (Byfield et al. 2017). No entanto, Policelli Smith et al. (2017) apresentaram taxas de complicação de 2,7% e Schiborra et al. (2017) uma taxa de 3,4%, em 300 e 280 procedimentos, respetivamente.

A realização de uma colecistocentese ecoguiada está contraindicada em casos de suspeita de colecistite enfisematosa, com presença de gás intraluminal (Brain et al. 2006), em casos de suspeita de mucocelo biliar (Center 2009; Mattoon et al. 2015; Schiborra et al. 2017) e suspeita de obstrução ou alterações que indiquem desvitalização da parede da VB (Center 2012).

#### **6.4. Alterações ecográficas associadas a cultura biliar positiva**

O primeiro grande estudo sobre associação das alterações ecográficas da VB e culturas de bÍlis foi realizado por Policelli Smith et al. (2017), no qual verificaram que uma ou mais alterações ecográficas da VB foram comuns na população em estudo. Neste estudo, os gatos com mais de uma alteração ecográfica apresentaram uma probabilidade 21 vezes superior de apresentar resultados de cultura positiva, em relação a gatos sem alterações ecográficas. Em contrapartida, os cães não apresentaram associação de nenhuma alteração ecográfica com o resultado positivo na cultura. Neste estudo, para os gatos a sensibilidade do exame ecográfico em indicar doença em animais com cultura positiva foi de 96% e a especificidade foi de 49%; nos cães, foi de 81% e 31%, respetivamente. Em gatos, verificou-se que as alterações ecográficas associadas a um aumento de probabilidade de cultura positiva foram espessamento da parede da VB e presença de sedimento biliar.

Num estudo de avaliação de casos com realização de colecistocentese ecoguiada, foram avaliadas as alterações ecográficas e a sua associação com os resultados da cultura (Schiborra et al. 2017). Assim, observou-se uma sensibilidade de 82% e especificidade de 55% das alterações ecográficas em relação a resultados positivos na cultura e uma associação com o espessamento máximo da parede da VB e irregularidade da superfície luminal.

### **III – Alterações ecográficas da árvore biliar associadas à realização de cultura de bÍlis: estudo retrospectivo de 22 casos**

#### **1. Introdução**

A possível associação entre alterações ecográficas e culturas biliares positivas tem sido parte integrante ou objeto de estudo nos últimos anos (Policelli Smith et al. 2017; Schiborra et al. 2017).

O diagnóstico de doenças biliares depende da combinação de diferentes métodos, enquanto o diagnóstico das afeções parenquimatosas e neoplásicas tem, obrigatoriamente, uma avaliação histológica do tecido afetado (van den Ingh et al. 2006).

A realização de culturas biliares tem vindo a adquirir uma importância crescente na prática clínica. De facto, as culturas biliares já demonstraram uma sensibilidade superior em comparação às culturas hepáticas, mostrando uma maior frequência de resultados positivos (Wagner et al. 2007). Esta circunstância levanta a hipótese de a árvore biliar se apresentar mais suscetível à infeção bacteriana ou constituir um local mais sensível para a deteção de bactérias (Wagner et al. 2007). Assim, a colheita de bÍlis tem vindo a assumir um papel significativo no processo de avaliação de doentes com suspeita de afeção hepatobiliar, não só devido ao seu valor diagnóstico e influência no tratamento em diferentes casos, mas também devido à utilização de métodos menos invasivos, e com baixa taxa de complicações, envolvidos na sua colheita, nomeadamente a colecistocentese percutânea ecoguiada (Peters et al. 2016; Byfield et al. 2017; Policelli Smith et al. 2017; Schiborra et al. 2017).

O resultado da cultura, caso se verifique positivo, pode ser considerado clinicamente relevante e, nesse caso, exerce influência na terapêutica aplicada. Assim, a cultura de bÍlis é de extrema importância na escolha da antibioterapia adequada a cada caso; ideia reforçada pela presença de resistências destas bactérias a diversos antibióticos (O'Neill et al. 2006; Timofte et al. 2011; Tamborini et al. 2016). A avaliação ecográfica destes animais constitui, frequentemente, um passo importante no processo de decisão no que concerne ao procedimento de colecistocentese e posterior realização de cultura (Rothuizen et al. 2006). Desta forma, o reconhecimento de alterações ecográficas, com possível associação com o resultado da cultura, torna-se uma mais valia durante a avaliação clínica do cão e/ou do gato. Assim, este estudo teve como objetivos:

- a. Relacionar as informações fornecidas pelos dois exames, exame ecográfico e cultura biliar, por forma a verificar a existência de associação entre cada alteração ecográfica e o resultado da cultura biliar;
- b. Identificar as alterações ecográficas mais frequentes na população e em cada grupo – cão e gato;



c. Observar a prevalência de culturas positivas na população e em cada grupo, os microrganismos isolados e a sua frequência.

## **2. Materiais e métodos**

### **2.1. Animais**

Neste estudo, retrospectivo, 31 animais com resultados de culturas de bÍlis foram selecionados a partir de relatórios laboratoriais relativos a um período de cinco anos, desde 1 janeiro de 2014 até 31 de dezembro de 2019, no HVR.

#### **2.1.1. Critérios de inclusão**

Os critérios de inclusão do estudo foram a existência de uma cultura biliar documentada e, simultaneamente, a presença de um relatório e imagens ecográficas, na proximidade da colheita da amostra biliar para cultura.

Especificamente, em relação à cultura, foi contabilizado o método de colheita utilizado – cirúrgico ou com auxílio ecográfico –, as condições de cultura, se em aerobiose e/ou anaerobiose, e ainda as bactérias identificadas. Considerando a data da colheita da amostra, sujeita a posterior cultura, foi realizado um levantamento de registos ecográficos feitos num período temporal próximo do procedimento de colheita (7 dias), tanto na forma de relatório, como de registo de imagens. Na primeira forma, foram privilegiados relatórios mais detalhados e com maior proximidade da colheita. Em casos de internamento ou seguimento prolongado, onde se realizaram vários exames ecográficos, num curto espaço de tempo até à decisão e realização da colheita biliar, a escolha dependeu do maior detalhe do relatório ecográfico, ou seja, deu-se primazia a relatórios que avaliassem um maior número de parâmetros de interesse, e qualidade das imagens, definida pela presença de imagens que permitissem avaliar os parâmetros estabelecidos. A última forma mencionada, registo de imagens, engloba um conjunto de imagens ecográficas e de vídeos, estáticos ou dinâmicos, que, sempre que possível, foram registados no dia da colheita da amostra.

#### **2.1.2. Critérios de exclusão**

Os critérios de exclusão foram inexistência de relatório ecográfico e imagens ecográficas que permitissem avaliar os parâmetros estabelecidos e ainda inexistência de historial clínico, comprometendo a caracterização do animal, na população que realizou cultura biliar.

## 2.2. Historial clínico

Após a identificação dos animais, foi feita uma pesquisa ao seu historial clínico, retirando informações relativas à sua espécie, sexo, peso, idade, estado de fertilidade e raça, para caracterização da população.

## 2.3. Ecografia

As avaliações ecográficas foram realizadas com um ecógrafo do modelo *Esaote Mylab Seven*, no entanto, recentemente o hospital passou a utilizar um modelo *Mindray Resona 7*.

As avaliações foram realizadas com transdutores de frequência entre 3-11 MHz. A avaliação das imagens estáticas, dos vídeos, bem como dos relatórios ecográficos, referentes a cada caso, foi feita considerando parâmetros ecográficos estabelecidos previamente, sendo recolhida toda a informação relevante. Os parâmetros ecográficos escolhidos para avaliar incluíram alterações da vesícula biliar (VB) e do seu conteúdo, juntamente com alterações no diâmetro do ducto biliar comum (DBC).

Parâmetros ecográficos avaliados:

- Espessura da parede da VB
- Ecogenicidade parede da VB
- Regularidade da superfície luminal da VB
- Conteúdo da VB
- Mobilidade do conteúdo da VB (caso existente)
- Mucocelo biliar
- Diâmetro do DBC

Com base nestes parâmetros, classificaram-se como alteração as seguintes situações: o espessamento da parede da VB; a alteração na ecogenicidade da parede da VB; a irregularidade da superfície luminal da VB; a presença de sedimento biliar na VB; a imobilidade do sedimento biliar; outro conteúdo biliar anormal, neste caso, gás, assinalado pela presença de um artefacto ecográfico (sombra); a presença de colelitíase ou coledocolitíase; a presença de imagem de mucocelo biliar; a dilatação do DBC. A presença ou ausência de cada alteração foi classificada (Figura 3), exceto para alterações da ecogenicidade da parede, caso em que se tentou caracterizar a alteração (Figura 2).

O espessamento da parede da VB foi definido por uma medição superior a 1 mm no gato e 2 mm no cão (Hittmair et al. 2001; Nyland et al. 2015). A presença de qualquer conteúdo biliar hiperecogénico foi registada independentemente da presença de sombra acústica e dependência da gravidade. No entanto, havendo possibilidade, foi avaliada a mobilidade do sedimento. A mesma registou-se como alterada sempre que definida no relatório como imóvel, e, sempre que possível, confirmada pela visualização de imagens em movimento. Na

ausência de registo escrito e em caso de existência de imagens ecográficas em movimento que o permitissem, a mobilidade foi avaliada.

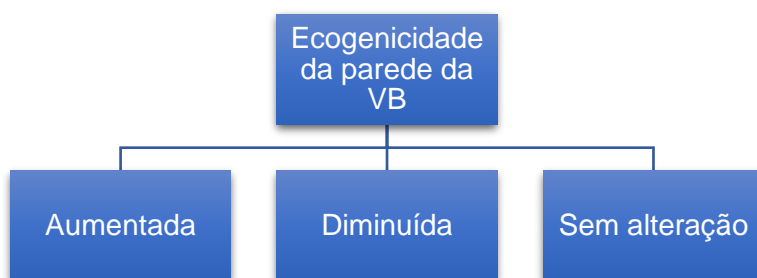
A litíase biliar foi definida como presença de estruturas hiperecogénicas delimitadas, dependentes da gravidade, juntamente com a presença de sombra acústica distal, ou sempre que mencionada ou descrita a sua presença no relatório ecográfico.

A presença de mucocelo biliar foi definida como a existência de sedimento biliar imóvel com um padrão estrelado típico ("striated pattern") (Nyland et al. 2015), mencionada no relatório e observável pelas imagens.

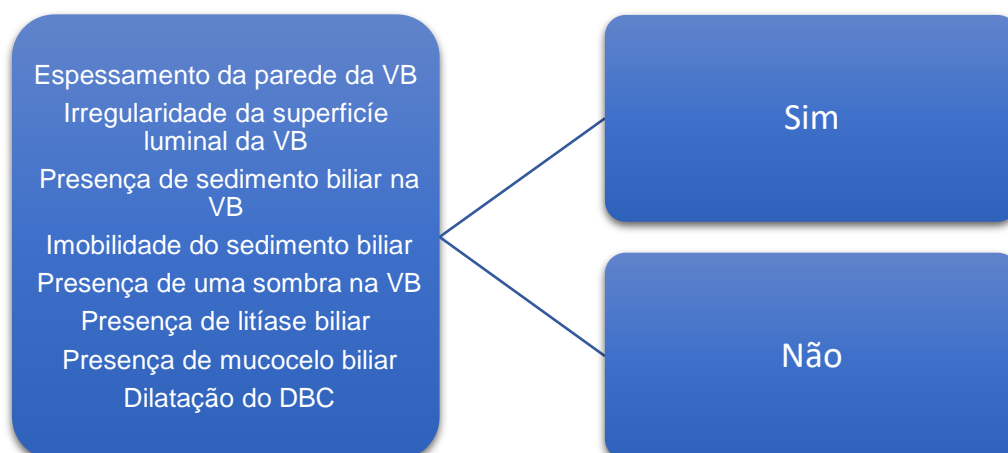
Foi registado sempre que se referiu a presença de irregularidade da superfície luminal da VB, ou que se verificou esta situação através da observação das imagens (Figura 4.E).

A presença de conteúdo biliar anormal, além dos anteriormente mencionados, observou-se ecograficamente pela visualização de uma sombra, na zona não dependente, na proximidade da parede da VB (Figura 4.G).

A dilatação do DBC foi considerada, no caso do gato, sempre que o diâmetro se apresentou superior a 4 mm, e, no caso do cão, sempre que esse valor se apresentou superior a 3 mm (Nyland et al. 2015).



**Figura 2: Classificação atribuída à alteração ecográfica da ecogenicidade da parede da VB na população**



**Figura 3: Classificação atribuída às alterações ecográficas na população em estudo**

## **2.4. Colheita Biliar**

### **2.4.1. Métodos de colheita**

O método de colheita utilizado foi a colecistocentese, realizada tanto em contexto cirúrgico ou de forma ecoguiada. O contexto em que foi realizada variou de acordo com a adequação a cada caso.

#### **2.4.1.1. Colecistocentese ecoguiada**

Os animais selecionados para este procedimento foram submetidos a um período de 12 horas de jejum e sedados com fentanilo (5µ/kg IV) /midazolam (0,2-0,3mg/kg IV) e, em alguns casos, foi administrado propofol (4-6mg/kg IV), consoante a preferência do médico veterinário que realizou o procedimento.

A colecistocentese percutânea ecoguiada foi realizada com recurso a uma agulha de 22 gauge, com uma seringa de 2/5 ml acoplada, com o animal em decúbito lateral direito ou decúbito dorsal. Com o auxílio de dois ecógrafos; um modelo *Esaote Mylab Seven* ou um modelo *Mindray Resona 7*, com uma sonda convexa de 3-11 MHz, realizou-se a punção direta da VB, recolhendo uma amostra de bÍlis, imediatamente acondicionada para ser enviada para laboratório.

Após estes procedimentos, realizaram-se dois momentos de reavaliação ecográfica. O primeiro, imediatamente, a todo o abdómen, e, mais especificamente, à árvore biliar, onde se avaliou a ocorrência de alguma complicação. O segundo momento de avaliação ecográfica foi realizado com o mesmo objetivo, mas com um intervalo de 4 horas após a colheita, aproximadamente.

#### **2.4.1.2. Colecistocentese em contexto cirúrgico**

Em contexto cirúrgico, a técnica utilizada na colecistocentese, propriamente dita, foi semelhante, assim como o material utilizado para a sua realização. Foi também realizada através de punção direta da vesícula, mas, desta vez, de forma intra-cirúrgica. Muitas vezes, este procedimento foi seguido de uma colecistectomia.

Após a realização da cirurgia, realizaram-se avaliações ecográficas, conforme descrição anterior, e com a mesma finalidade.

## **2.5. Culturas de bÍlis**

Os aspirados biliares foram enviados para dois laboratórios externos devidamente acondicionados até uma hora após a sua colheita, em casos de cultura de anaeróbios.

No primeiro laboratório, a pesquisa de microrganismos aeróbios foi efetuada em meio de gelose de sangue, meios seletivos para bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e gelose de chocolate, encubadas em atmosfera de oxigênio ou de dióxido de carbono a 35°C +/-2°C durante 48-72 horas. No caso de amostras para pesquisa de microrganismos anaeróbios, foram utilizadas geloses de sangue simples (e com inibidores) e a incubação foi feita em atmosfera de anaerobiose a 36°C +/- 1°C durante 5 dias. Caso as culturas fossem positivas, com microrganismos considerados patogênicos para a amostra em estudo, era feita a identificação e antibiograma ou TSA do(s) microrganismo(s) obtido(s).

No segundo laboratório, no caso de pesquisa de microrganismos aeróbios, a amostra foi inoculada em *Columbia agar (5% sheep blood)* (COS), *MacConkey agar* (MCK) e *Brain heart infusion* (BHI) durante 48 horas a 36° C +/- 1°C. Verificando-se não haver crescimento, e se o exame direto da bÍlis o justificasse, havia repicagem do meio BHI para COS, observando-se a existência de crescimento até às 48 horas. No caso de pesquisa de microrganismos anaeróbios, a amostra foi inoculada em meio *Schaedler agar +5% sheep blood* em anaerobiose e caldo *Schaedler*, ambos a 36°C +/- 1 °C. O meio foi avaliado ao fim de 5 dias e o caldo ao fim de 7 dias. Em caso de crescimento, eram feitos os testes bioquímicos necessários (Gram, Oxidase, Catalase, entre outros) para a identificação da bactéria em causa. Após a identificação, era realizado o TSA pelo método Kirby-Bauer (difusão em disco).

## 2.6. Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados através do programa R (R Core Team 2020). Após construção de uma base de dados com as informações recolhidas, foi efetuado o cálculo das frequências relativas e absolutas das alterações ecográficas, médias, máximos e mínimos das variáveis quantitativas (idade, peso, número de alterações), na população total. Para comparação entre dados de cães e de gatos, efetuou-se a separação em grupos, e observou-se a frequência absoluta e relativa das alterações ecográficas em cada um dos grupos. A possibilidade da existência de associações estatísticas entre variáveis foi testada, através da utilização do teste exato de Fisher; tanto a associação de cada alteração ecográfica e o resultado da cultura, considerando toda a população, como a associação entre cada grupo e alteração ecográfica. Para a associação da imobilidade do sedimento com outra variável, consideraram-se apenas casos com sedimento na VB.

Utilizou-se ainda um teste t para o número de alterações ecográficas em cada grupo, a normalidade da variável foi assumida depois de realizado o teste da assimetria e da curtose (Kim 2013). Foram considerados significativos os valores de  $p < 0,05$ .

### **3. Resultados**

#### **3.1. Animais e a sua caracterização**

Da amostra inicial (31 animais), apenas 22 cumpriam os critérios de inclusão estabelecidos, ou seja, existência de uma cultura biliar documentada e, simultaneamente, a presença de um relatório e imagens ecográficas, na proximidade da colheita da amostra biliar para cultura.

Considerando os critérios de exclusão, excluíram-se 9 animais. Um deles foi excluído pela inexistência de historial, impedindo a sua caracterização, e 8 por falta de relatório detalhado e imagens ecográficas que permitissem avaliar os parâmetros estabelecidos.

Assim, apenas 13 cães e 9 gatos cumpriam os critérios estabelecidos (n=22).

##### **3.1.1. Cães**

Neste estudo, foram incluídos 13 cães, com uma média de idades de 11,3 anos, com valores mínimos e máximos de 5 e 15 anos. A média de pesos correspondeu a 11,6 kg, com valores mínimos e máximos de 3,2 kg e 26,2 kg, respetivamente. Dos 13 cães, 30,8% (n=4/13) eram machos e 69,2% (n=9/13) eram fêmeas. No que concerne ao estado de fertilidade, 100% (n=4/4) dos machos eram não castrados, juntamente com uma fêmea (11,1%), tendo as restantes 88,9% (n=8/9) realizado anteriormente ovariectomia (OVH). Nesta população, os cães de raça indeterminada apresentaram maior representação, ou seja, 38,5% (n=5/13) dos casos. As restantes raças, Chihuahua, Cocker Spaniel, Pequês, Labrador Retriever, Podengo, Schnauzer Miniatura, Spitz Alemão e Yorkshire Terrier, representaram 7,7% dos casos, cada uma, correspondendo a um animal.

##### **3.1.2. Gatos**

Relativamente aos gatos, foram incluídos 9 neste estudo, com uma média de idades de 10,7 anos, com valores mínimos e máximos de 4 e 14 anos. A média de pesos correspondeu a 4,2 kg, com valores mínimos e máximos de 2,7 kg e 5,7 kg, respetivamente. Destes 9 gatos, 55,6% (n=5/9) eram machos e 44,4% (n=4/9) eram fêmeas. Relativamente ao estado de fertilidade, 100% (n=5/5) dos machos eram castrados, juntamente com 75% (n=3/4) das fêmeas, que realizaram OVH. As restantes 25% (n=1/4) estavam férteis. O Europeu Comum foi a raça com maior representação nesta população, constituindo 77,8% (n=7/9) dos casos, os restantes gatos eram de raça Persa, correspondendo a 22,2% (n=2/9) dos casos.

### 3.2. Colheita das amostras

Nos 22 animais apresentados, em 68,2% (n=15/22) dos casos, a colheita biliar foi realizada em contexto cirúrgico, e 31,8% (n=7/22) dos casos, a colecistocentese foi ecoguiada.

Nos cães, em 84,6% (n=11/13) dos casos, as colheitas foram realizadas em contexto cirúrgico, e as restantes, correspondentes a 15,4% (n=2/13), de forma ecoguiada. Nos gatos, as colheitas foram realizadas, maioritariamente, através da forma ecoguiada, (55,6%; n=5/9) dos casos. As restantes colheitas (44,4%; n=4/9), foram realizadas em contexto cirúrgico.

### 3.3. Resultados das culturas

As culturas biliares realizaram-se em condições de aerobiose e anaerobiose em 77,3% (n=17/22) das amostras. As restantes culturas (22,7%) estiveram apenas sujeitas a condições aeróbias.

Num total de 22 amostras biliares submetidas a cultura, 17 (77,3%) apresentaram um resultado negativo e 5 (22,7%) apresentaram resultado positivo.

Nos gatos, verificou-se crescimento bacteriano em 1 dos 9 casos, representando 100% de culturas singulares, ou seja, apenas com um isolado bacteriano.

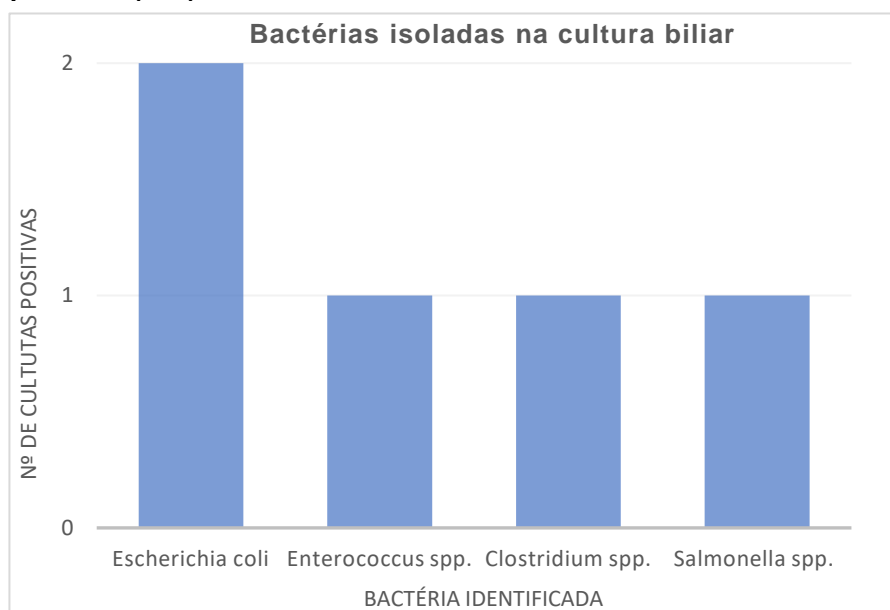
Nos cães, verificou-se crescimento bacteriano em 4 dos 13 casos, sem presença de culturas mistas (de vários isolados), à semelhança do gato. A prevalência dos resultados positivos nos dois grupos encontra-se ilustrada na tabela 1.

Em 40% das culturas positivas identificou-se a presença de *Escherichia Coli*, em 20% das culturas identificou-se presença de *Clostridium spp.* e, na mesma percentagem, identificou-se ainda *Enterococcus spp.* (20%) e *Salmonella spp.* (20%), na população. O número de culturas positivas relativo a cada bactéria, em cinco culturas com resultado positivo, encontra-se ilustrado no Gráfico 2.

Nos cães, as bactérias isoladas foram *Escherichia Coli*, *Clostridium spp.* e *Enterococcus spp.*

Nos gatos, apenas se identificou uma bactéria, *Salmonella spp.*

**Gráfico 2: Frequência absoluta das bactérias identificadas nas culturas positivas (n=5)**



**Tabela 1: Prevalência de culturas positivas nos dois grupos**

Prevalência de cultura positiva em cão	Prevalência de cultura positiva em gato
30,7% (4/13)	11,1% (1/9)

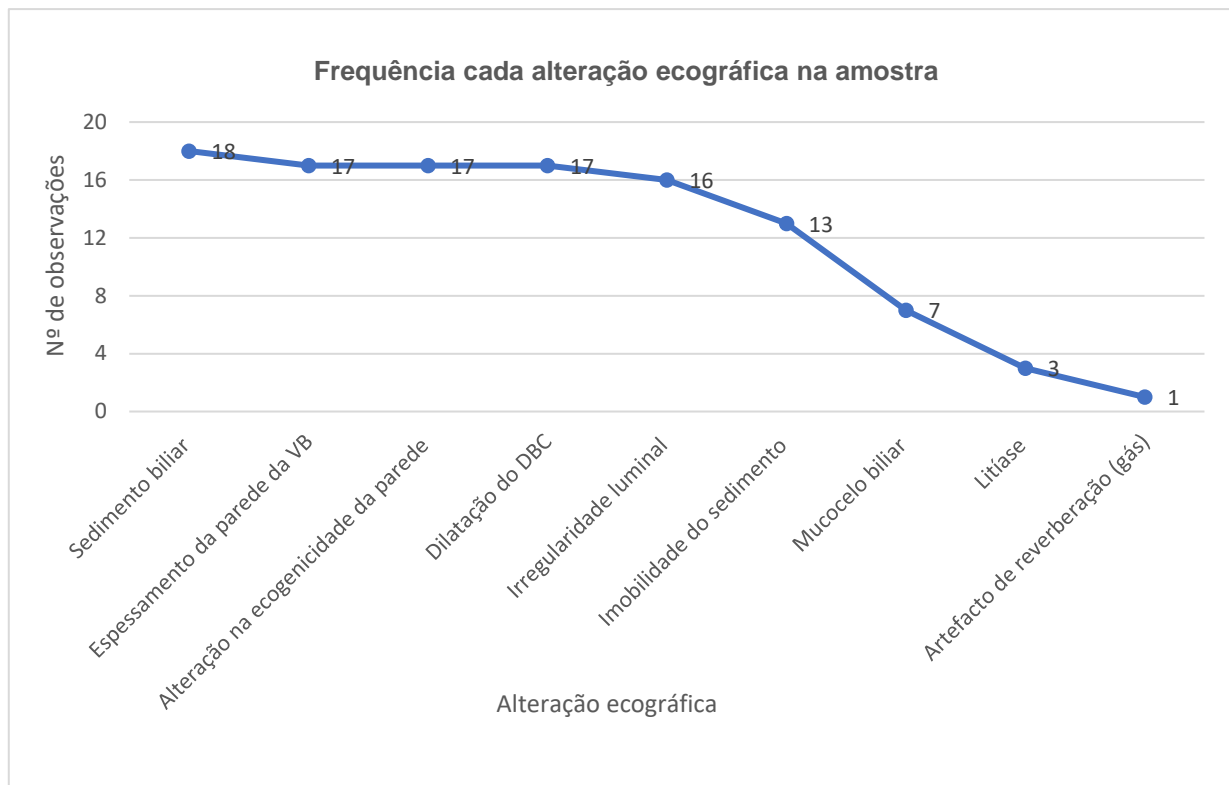
### 3.4. Alterações ecográficas na população total

Todas as ecografias realizadas apresentavam, pelo menos, uma alteração. A presença de sedimento na VB foi a alteração ecográfica com maior expressão, observando-se em 81,8% da população. Dentro dos animais com esta alteração, 72,2% dos casos apresentaram imobilidade do sedimento.

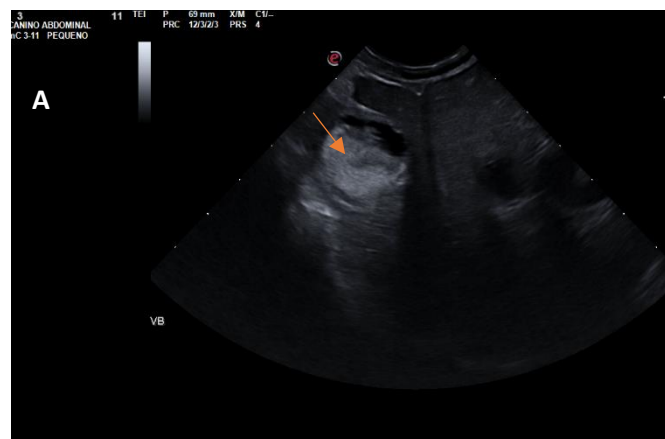
Seguidamente à presença de sedimento biliar, a presença de espessamento da parede da VB, alteração da ecogenicidade da parede da VB e dilatação do DBC, observaram-se em 77,3% dos casos. A irregularidade da superfície luminal verificou-se em 72,7% da população. A aparência de mucocelo biliar foi identificada em 31,8% da população. Por fim, com menor frequência, verificou-se a presença de litíase e outro conteúdo biliar anormal na VB (Sombra), correspondendo a 13,6% e 4,6%, respetivamente. A frequência absoluta de cada alteração na população está demonstrada no Gráfico 3.



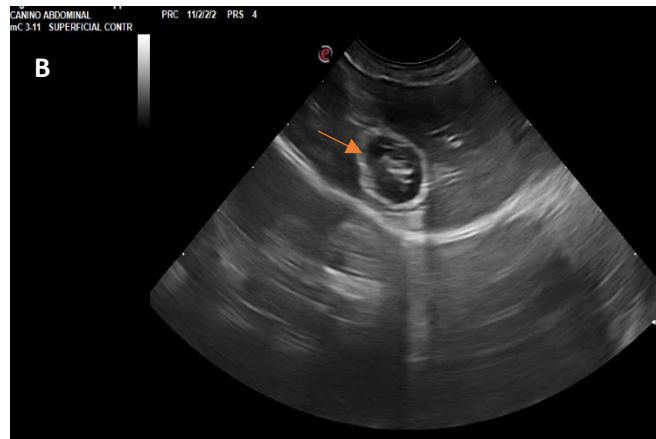
**Gráfico 3: Frequência absoluta de cada alteração na população (n=22)**



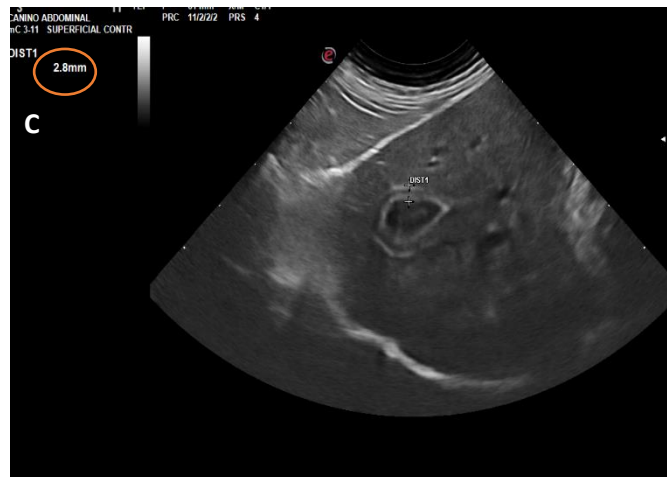
**Figura 4: Alterações ecográficas observadas na população (Imagens gentilmente cedidas pelo Hospital Veterinário do Restelo)**



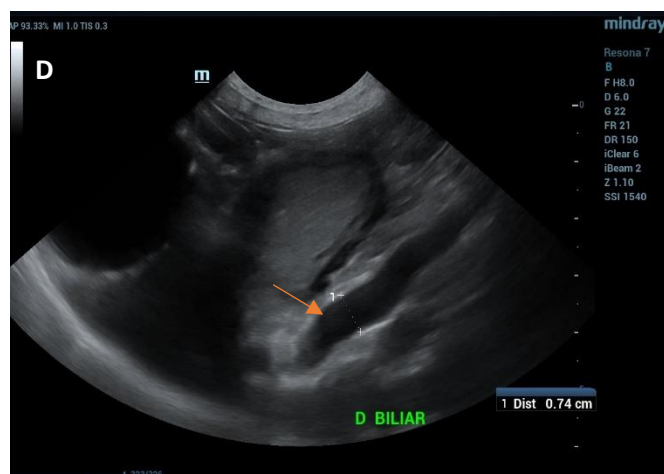
4.A: Sedimento biliar na VB (seta) de um gato (com cultura positiva: *Salmonella spp.*).



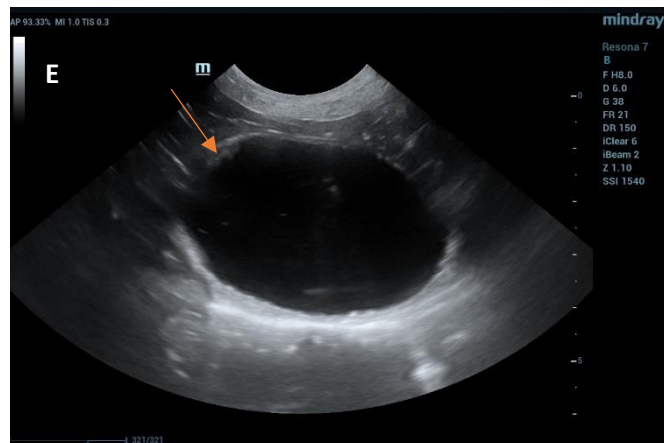
4.B: Alteração da ecogenicidade da parede da VB (seta), com ecogenicidade aumentada generalizada em cão (com cultura positiva: *Enterococcus spp.*).



4.C: Espessamento da parede da VB em gato, 2,8mm (círculo) (>1mm).



4.D: Dilatação do Ducto Biliar Comum (seta) em cão, com diâmetro de 7,4 mm (>3mm).



4.E: Irregularidade da superfície luminal da VB (Seta) em cão (com cultura positiva: *E.coli*).



4.F: Aparência ecográfica de mucocelo biliar em cão.

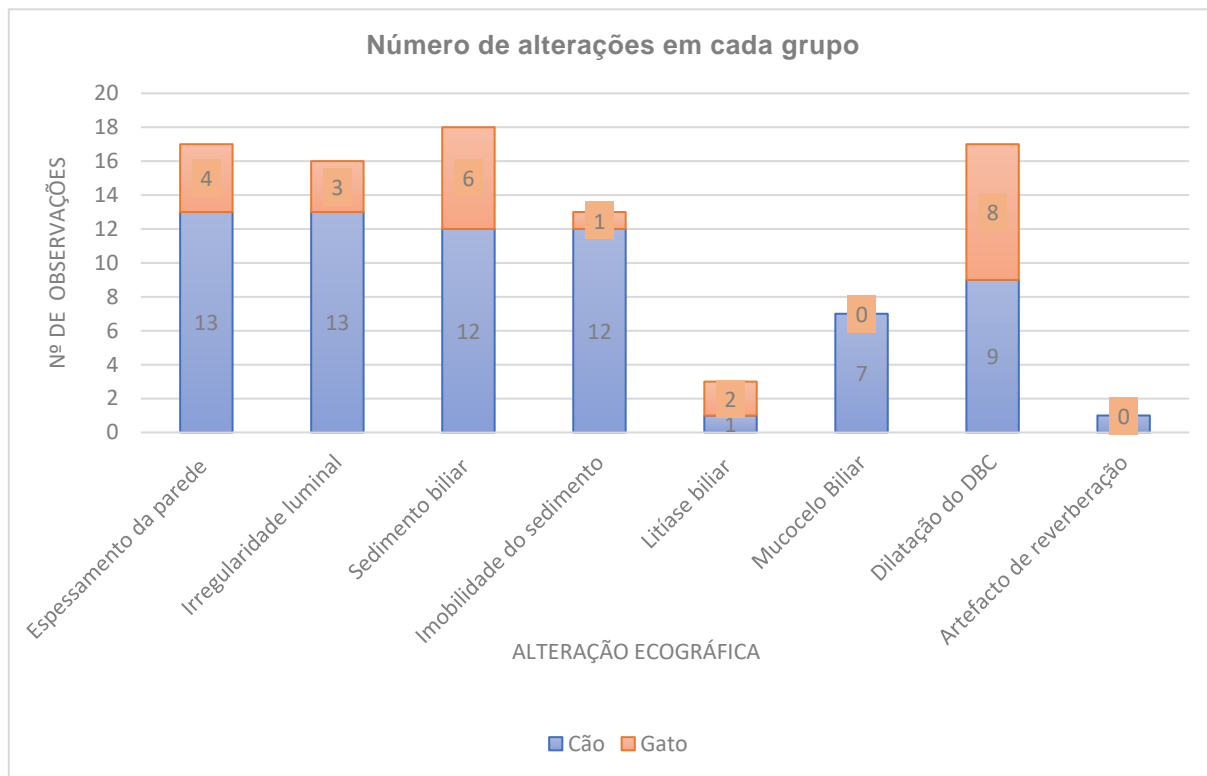


4.G: Artefacto sugestivo de presença de gás na vesícula biliar em cão (com cultura positiva: *E.coli*).

### 3.5. Alterações ecográficas nos dois grupos

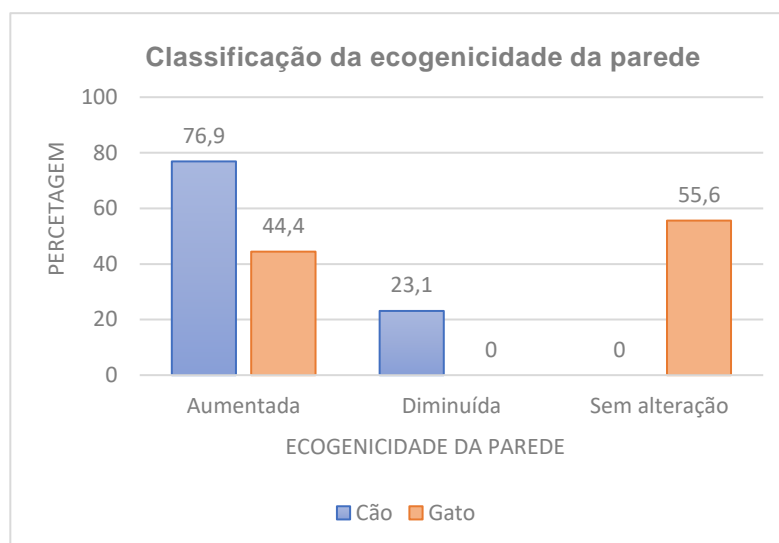
A divisão em grupos (cães e gatos) permitiu observar a frequência de cada alteração ecográfica nos grupos (Gráfico 4).

**Gráfico 4: Frequência absoluta de cada alteração ecográfica em cada grupo (cães e gatos)**



A alteração da ecogenicidade da parede da VB verificou-se em todos os cães. Observou-se ecogenicidade aumentada da parede na grande maioria dos casos, em 76,9% (n=10/13), e ecogenicidade diminuída em apenas 23,1% (n=3/13) dos cães. Nos gatos, a ecogenicidade da parede apresentou-se sem alterações em 55,6% (n=5/9) dos casos e, nos restantes, observou-se ecogenicidade aumentada, não se observando casos de ecogenicidade diminuída. As frequências relativas a esta alteração e comparação entre os dois grupos podem ser observadas no Gráfico 5.

**Gráfico 5: Frequência relativa da classificação da Ecogenicidade da parede da VB**



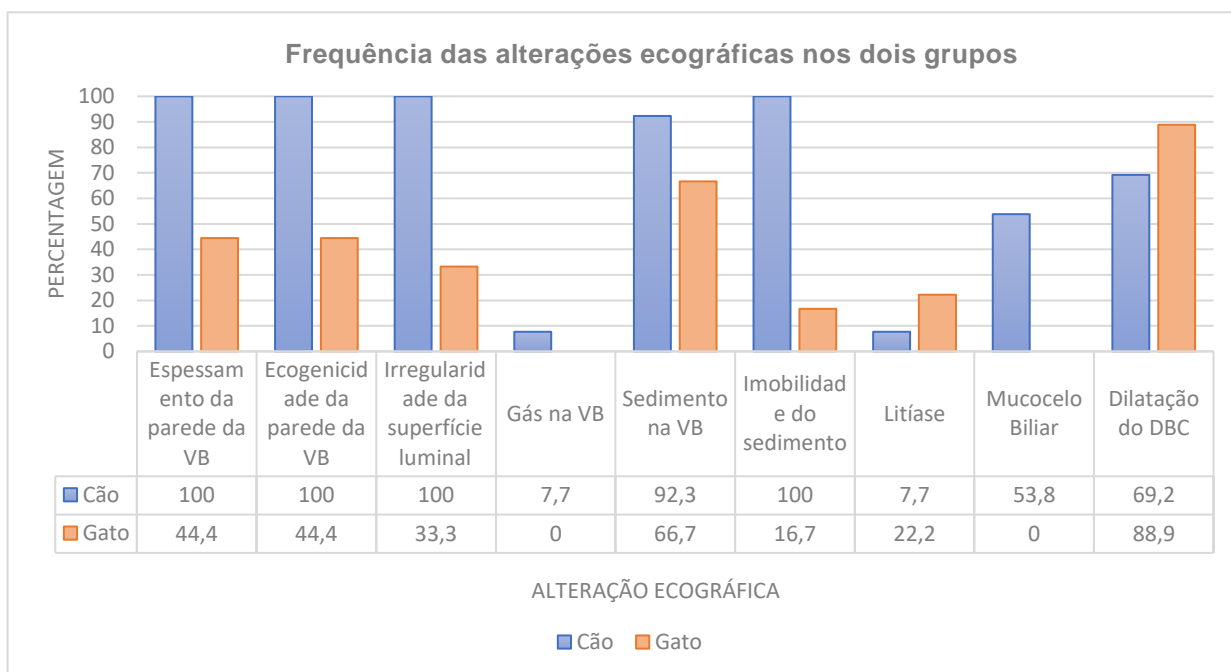
Nos cães, o espessamento da parede da VB, a irregularidade da superfície luminal e a imobilidade do sedimento biliar observaram-se em todos os casos do grupo. As mesmas alterações mencionadas observaram-se, em menor frequência, no grupo dos gatos. As alterações da parede da VB (espessamento e ecogenicidade) destacaram-se em 44,4% dos gatos, a irregularidade em 33,3% dos gatos e imobilidade do sedimento em menor percentagem, 16,7%.

Em apenas um caso canino se verificou a suspeita de conteúdo luminal da VB gasoso, associado à presença de uma sombra, representado uma pequena percentagem (7,7%). As alterações ecográficas características de mucocelo biliar apenas se visualizaram no grupo canino, observadas em 53,8% dos cães.

Nos gatos, verificou-se maior frequência de alterações como a dilatação do DBC (88,9%) e presença de litíase biliar (22,2%), comparativamente ao grupo dos cães, onde se verificaram as mesmas alterações, mas em menor frequência (69,2% e 7,7%, respetivamente).

A observação de sedimento biliar foi frequente nos dois grupos, embora se tenha verificado mais frequente no grupo dos cães (92,3%), em relação ao grupo dos gatos (66,7%). O resultado relativo às frequências de cada alteração ecográfica por grupo está ilustrado no Gráfico 6.

**Gráfico 6: Frequência relativa de cada alteração ecográfica em cada grupo**



### 3.6. Alterações ecográficas relacionadas com o grupo

Seguidamente, realizou-se uma comparação entre grupos, avaliando a associação entre o grupo e cada alteração ecográfica, através de nova realização de um teste exato de Fisher para cada variável. Das alterações ecográficas consideradas, não se verificou associação com o grupo apenas em três alterações, designadamente sedimento biliar, litíase biliar e dilatação do DBC ( $p>0,05$ ; Tabela 2, 3 e 4). As restantes alterações demonstraram associação, nomeadamente o espessamento da parede ( $p=0,005$ ; Tabela 5), a irregularidade da superfície luminal ( $p=0,001$ ; Tabela 6), a imobilidade do sedimento ( $p=0,01$ ; Tabela 9), o mucocelo biliar ( $p=0,02$ ; Tabela 7) e, finalmente, a alteração da ecogenicidade da parede ( $p=0,04$ ; Tabela 8).

Relativamente ao número de alterações ecográficas em cada grupo (Tabela 10 e 11), verificou-se um número de alterações superior no cão, comparativamente ao gato; correspondendo a uma média de 6,2 e 3,1 alterações ( $p=0,001$ ; Tabela 12).

**Tabela 2: Associação entre o grupo e o sedimento biliar**

Grupo	Sedimento na VB				Valor de p
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Cão	12	92,30%	1	7,70%	0,26
Gato	6	33,30%	3	55,60%	

**Tabela 3: Associação entre o grupo e a litíase biliar**

Grupo	Litíase biliar				Valor de p
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Cão	1	7,70%	12	92,30%	0,54
Gato	2	22,20%	7	77,80%	

**Tabela 4: Associação entre o grupo e a dilatação do DBC**

Grupo	Dilatação do Ducto Biliar Comum				Valor de <i>p</i>
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Cão	9	69,00%	4	31,00%	0,36
Gato	8	88,90%	1	11,10%	

**Tabela 5: Associação entre o grupo e o espessamento da parede da VB**

Grupo	Espessamento da parede				Valor de <i>p</i>
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Cão	13	100,0%	0	0,0%	0,005
Gato	4	44,4%	5	55,6%	

**Tabela 6: Associação entre o grupo e a irregularidade da superfície luminal**

Grupo	Irregularidade luminal				Valor de <i>p</i>
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Cão	13	100,0%	0	0,0%	0,001
Gato	3	33,3%	6	66,7%	

**Tabela 7: Associação entre grupo e mucocelo biliar**

Grupo	Mucocelo Biliar				Valor de <i>p</i>
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Cão	7	53,8%	6	46,2%	0,02
Gato	0	100,0%	9	0,0%	

**Tabela 8: Associação entre o grupo e as alterações de ecogenicidade da parede da VB**

Grupo	Ecogenicidade da parede da VB						Valor de <i>p</i>
	Aumentada		Diminuída		Sem alteração		
	n	%	n	%	n	%	
Cão	10	76,9%	3	23,1%	0	0,0%	0,04
Gato	4	44,4%	0	0,0%	0	55,6%	

**Tabela 9: Associação entre o grupo e a imobilidade do sedimento (sem casos de mucocelo)**

Grupo	Imobilidade do sedimento				Valor de <i>p</i>
	Sim		Não		
	n	%	n	%	
Cão	8	83,3%	1	16,7%	0,01
Gato	1	11,1%	8	88,9%	

**Tabela 10: Número de alterações ecográficas nos cães considerando as 9 alterações possíveis**

Casos caninos	Número de alterações
1	6
2	7
3	6
4	7
5	6
6	7
7	4
8	6
9	5
10	7
11	6
12	7
13	7

**Tabela 11: Número de alterações ecográficas nos gatos considerando as 9 alterações possíveis**

Casos felinos	Número de alterações
1	1
2	5
3	2
4	5
5	1
6	1
7	4
8	6
9	3

**Tabela 12: Média das alterações em cada grupo e valor de  $p$  obtido**

Grupo (Cão)	Grupo (Gato)	Valor de $p$
6,2	3,1	0,001



### 3.7. Associação entre as alterações ecográficas e o resultado da cultura biliar

Considerando cada alteração: espessamento da parede da VB, irregularidade da superfície luminal da VB, ecogenicidade da parede da VB, sedimento na VB, imobilidade do sedimento, mucocelo biliar e finalmente dilatação do DBC, não se verificou associação de nenhuma com o resultado da cultura (Tabela 13), pois os valores de  $p$  apresentaram-se sempre superiores a 0,05. Ainda assim, as culturas positivas ( $n=5$ ) apresentaram-se em todos os casos com espessamento da parede, irregularidade da superfície luminal e ecogenicidade aumentada da VB. Considerando os casos positivos com sedimento na VB ( $n=4$ ), a totalidade apresentou imobilidade do sedimento biliar.

**Tabela 13: Associação entre as alterações ecográficas e o resultado da cultura biliar**

		Resultados da cultura biliar				Valor de <i>p</i>
		Positivo		Negativo		
		n	%	n	%	
Espessamento da parede da VB						
	Sem espessamento	0	0%	5	100%	0,2899
	Com espessamento	5	29,40%	12	70,60%	
Irregularidade luminal da VB						
	Sem irregularidade	0	0%	6	100%	0,2663
	Com irregularidade	5	31,20%	11	68,80%	
Litíase Biliar						
	Sem litíase	4	21,10%	15	78,90%	1
	Com litíase	1	33,30%	2	66,7%	
Mucocelo Biliar						
	Sem MB	5	33,30%	10	66,70%	0,1348
	Com MB	0	0,00%	7	100,00%	
Imobilidade do sedimento						
	Sem imobilidade	0	0%	8	100%	0,2778
	Com imobilidade	4	30,80%	9	69,20%	
Sedimento na VB						
	Sem sedimento	1	25%	3	75%	1
	Com sedimento	4	22,20%	14	77,80%	
Dilatação do DBC						
	Sem dilatação	1	20%	4	80%	1
	Com dilatação	4	23,50%	13	76,50%	
Ecogenicidade da parede da VB						
	Aumentada	5	35.7%	9	64,30%	0,2467
	Diminuída	0	0%	3	100%	
	Normal	0	0%	5	100%	

**Legenda:** A negrito apresentam-se os casos positivos ( $n=5$  ou  $n=4$ , no caso de imobilidade) que se apresentaram sempre com ou sem a alteração respetiva considerada.

#### 4. Discussão

A realização de culturas biliares tem vindo a assumir um papel de relevância na avaliação de animais com suspeita de doença hepatobiliar. A bacteriobilia pode constituir um diagnóstico diferencial importante, designadamente em animais com sinais clínicos referentes à árvore biliar (Lawrence et al. 2015). A realização de uma avaliação ecográfica, em animais com suspeita de doença hepatobiliar, constitui um passo fundamental. Muitas decisões, no que diz respeito à gestão de cada caso, são tomadas de acordo com os dados deste exame. Na população em estudo, todos os casos apresentaram, pelo menos, uma alteração ecográfica, considerando os parâmetros explorados. Apesar da avaliação ecográfica da árvore biliar poder ter assumido um grau de importância variável na apreciação de cada caso, constituiu um exame relevante.

A alteração ecográfica mais frequente foi a presença de sedimento biliar na VB (81,8%), seguida de espessamento da parede da VB (77,3%), de alterações na ecogenicidade da parede da VB (77,3%) (maioritariamente ecogenicidade aumentada) e da dilatação do DBC (77,3%). Estudos anteriores também evidenciaram alterações como sedimento biliar, espessamento da parede da VB, dilatação do DBC como as alterações ecográficas mais frequentes na sua população (Tamborini et al. 2016; Byfield et al. 2017; Policelli Smith et al. 2017; Schiborra et al. 2017). No entanto, uma comparação direta a alguns destes estudos pode não ser adequada, em virtude da diferenciação de critérios associada a cada estudo. Também a irregularidade da superfície luminal foi verificada em grande parte da amostra (72,7%), sendo seguida, em frequência inferior e de forma decrescente, de imobilidade do sedimento biliar (72,2%), mucocelo biliar (31,8%), litíase biliar (13,6%) e, por fim, outro conteúdo anormal na VB (4,6%).

A presença de sedimento biliar observou-se, anteriormente, em 90,1% da população sujeita a colecistocentese percutânea ecoguiada, onde maior parte da população realizou também cultura biliar; um valor superior ao obtido no presente estudo (81,8%). Importa mencionar que a importância atribuída à presença de sedimento biliar varia de acordo com a sua presença em cão ou em gato. No caso do cão, a importância dada a esta alteração é variável, uma vez que a sua presença verifica-se tanto em animais com afeções hepatobiliares, como em animais saudáveis (Brömel et al. 1998). Embora possa ocorrer igualmente em cães saudáveis, a presença de sedimento, independentemente da sua mobilidade, alerta para um atraso no esvaziamento vesicular e, em consequência, estase biliar (Tsukagoshi et al. 2012). Relativamente a atrasos no esvaziamento vesicular, importa ainda mencionar a influência da realização de jejum nos animais avaliados, uma vez que constitui um fator importante a considerar durante a avaliação ecográfica. No entanto, verificou-se que todos os casos caninos, na população do presente estudo, apresentaram imobilidade do sedimento, considerando-se a sua presença significativa e não incidental. No

caso do gato, a presença de sedimento pode ser preditiva de um aumento das enzimas hepáticas e da bilirrubina total (Harran et al. 2011), justificando uma maior relevância desta alteração durante a avaliação ecográfica desta espécie, comparativamente ao cão. Noutro estudo, esta alteração ecográfica demonstrou associação com maior probabilidade de cultura biliar positiva, em gato (Policelli Smith et al. 2017). Na presente análise – associação das alterações ecográficas e resultado da cultura biliar –, o número reduzido da amostra impossibilitou a divisão em grupos, o que poderá ter influenciado a ausência de associação nos resultados obtidos, pela impossibilidade de comparar alterações ecográficas dentro de cada grupo, considerando as especificidades de cada espécie.

As alterações ecográficas como espessamento da parede da VB, alteração da ecogenicidade da parede da VB e dilatação do DBC apresentaram a mesma frequência na amostra (77,3%). Num estudo anterior, o espessamento da parede da VB observou-se em 61,7% da população (Schiborra et al. 2017), verificando-se mais frequente na amostra do presente estudo. O espessamento da parede da VB constitui outra das alterações ecográficas anteriormente associada à cultura biliar positiva (Policelli Smith et al. 2017; Schiborra et al. 2017); contudo, constitui uma alteração ecográfica pouco específica. Normalmente, a parede da VB é de difícil visualização, observa-se como uma fina linha ecogénica (Nyland et al. 2015; Penninck and D'Anjou 2015). No gato, a medição da espessura é normalmente inferior a 1 mm (Hittmair et al. 2001). No cão, as medições descritas apresentam alguma variação, inferior a 1 mm (Nyland et al. 2015; Penninck and D'Anjou 2015), entre 1 a 2 mm (McAllister and Kealy 2011), entre 2 a 3 mm (Spaulding 1993). Neste estudo, considerou-se a parede espessada sempre que os valores se apresentaram superiores a 2 mm, à semelhança de estudos anteriores (Policelli Smith et al. 2017; Schiborra et al. 2017). A presença de espessamento surge relacionada com doenças primárias da VB (colangite/colecistite), ou é resultante de um envolvimento secundário em doenças sistémicas, tais como: a hepatite, a pancreatite, a insuficiência cardíaca congestiva, a hipertensão portal, a hipoalbuminémia, a septicémia, a anafilaxia e a neoplasia (Nyland et al. 2015; Larson 2016; Larson 2020). Embora neste estudo não se tenha verificado associação estatística, nenhum dos casos positivos se apresentou sem espessamento da parede da VB (n=5; 22,7%).

Em casos de inflamação da VB, a cronicidade e a gravidade do processo refletem-se na aparência da parede, resultando em alterações da ecogenicidade da mesma. Por vezes, uma hiperecogenicidade difusa da parede pode, ainda, estar associada a processos de mineralização distrófica (Penninck and D'Anjou 2015). No presente estudo, as alterações da ecogenicidade da parede foram mais comuns, 77,3%, incluindo casos de ecogenicidade aumentada e também de ecogenicidade diminuída. Em 14 dos 22 animais (63,6%), observou-se uma parede da VB de ecogenicidade aumentada. É Importante realçar que, embora, de

novo, sem associação estatística, todos os casos positivos (n=5; 22,7%) se apresentaram com ecogenicidade aumentada.

A irregularidade da superfície luminal verificou-se em 72,7% da amostra, um valor semelhante, mas um pouco superior a um estudo anterior, sobre colecistocentese ecoguiada; onde esta alteração verificou-se em 69,5% dos casos (Schiborra et al. 2017). Inclusivamente, neste mesmo estudo, esta alteração ecográfica demonstrou associação com um resultado de cultura biliar positivo, o que, neste estudo, não se verificou. Esta alteração apresenta-se também como uma alteração ecográfica pouco específica, podendo observar-se, por exemplo, em casos de colangite e/ou colecistite (Nyland et al. 2015; Tamborini et al. 2016). Ainda assim, importa mencionar que nenhum dos casos positivos se apresentou sem esta alteração (n=5; 22,7%).

A observação de uma parede da VB anormal constitui um fator indicador para a realização de uma colheita biliar, com posterior realização de citologia e cultura (Rothuizen et al. 2006). Com efeito, a elevada frequência de alterações relacionada com a parede da VB seria previsível, tal como se verificou. Se, por um lado, é importante realçar que nenhum dos casos positivos se apresentou sem alterações da parede da VB, por outro lado, também era expectável que a decisão da colheita de bÍlis tenha sido influenciada por estas alterações, assim como por outras alterações indicativas de doença hepatobiliar; sendo mais provável a colheita na sua presença do que na sua ausência.

A dilatação luminal do DBC é comum em casos de colangite/ colangiohepatite/ colecistite, assim como em casos obstrutivos (Rothuizen et al. 2006; Tamborini et al. 2016). O diâmetro normal do DBC é inferior a 3 mm e a 4 mm, no cão e no gato, respetivamente (Nyland et al. 2015). No entanto, por vezes, pode revelar-se difícil diferenciar uma dilatação obstrutiva de uma dilatação associada a estase biliar, resultante da inflamação da árvore biliar (Léveillé et al. 1996). Este parâmetro ainda não tinha sido avaliado anteriormente – em associação com o resultado da cultura –, em virtude de os autores anteriores terem feito uma restrição das alterações avaliadas, centrando-se exclusivamente na VB. Na população em estudo, não se encontrou associação entre esta alteração e o resultado da cultura. A causa da dilatação luminal do DBC não foi determinada, podendo, em alguns casos, dever-se a situações obstrutivas completas ou parciais e, em outros casos, dever-se a alterações inflamatórias ou infecciosas, ou ainda a alterações noutros órgãos, que, quando alterados, podem provocar alterações na árvore biliar. Os critérios de inclusão foram bastante alargados, pois, apenas foi necessária a realização de cultura e ecografia, anteriormente à colheita para a cultura, não se podendo excluir como causa nenhuma das situações mencionadas anteriormente.

A imobilidade do sedimento verificou-se em 72,2% da amostra com sedimento biliar. Um estudo anterior alertou para a importância de realizar uma avaliação microbiológica biliar,

principalmente na presença desta alteração. A imobilidade do sedimento verificou-se em 7 dos 10 casos desse estudo, ou seja, 70% dos cães. O estudo foi realizado num contexto restrito a cães com colecistite e/ou bacteriobilia (Lawrence et al. 2015). No presente estudo, não se fez a mesma restrição. No presente cenário, não se verificou associação estatística desta alteração com o resultado da cultura. Ainda assim, das 5 culturas positivas, em 4 verificou-se presença de sedimento biliar imóvel e um dos casos positivos não apresentou sedimento. As observações do presente estudo, não obstante a redução da amostra, parecem salientar, também, a importância de realizar uma avaliação microbiológica na presença desta alteração.

A presença de mucocelo biliar verificou-se em 31,8% da população. Em comparação com o estudo anterior, é um valor muito superior ao obtido anteriormente, 2% (Schiborra et al. 2017). As diferenças nos critérios de inclusão dos dois estudos explicam a enorme diferença entre valores, uma vez que, o presente estudo inclui casos em que se realizou colecistocentese ecoguiada e cirúrgica, enquanto que o estudo anterior incluiu apenas casos onde a colheita se realizou com auxílio ecográfico. A suspeita de mucocelo biliar constitui, muitas vezes, uma contraindicação para a realização deste procedimento de forma ecoguiada (Center 2009; Mattoon et al. 2015). Tendo, inclusivamente, os autores do estudo anterior (Schiborra et al. 2017) questionado o benefício da sua realização nestes casos, considerando o número reduzido de resultados positivos na cultura biliar, do seu estudo. Policelli Smith et al. (2017) identificaram ecograficamente em 143 cães, 4% de casos de mucocelo biliar, o que ao comparar com o valor obtido na população do presente estudo já se verifica uma enorme diferença (31,8%). Se, para efeitos de comparação, considerarmos apenas os casos caninos, verifica-se uma diferença ainda superior, a aparência ecográfica de mucocelo biliar observou-se em 53,8% dos cães. O que pode indicar que, neste estudo, pode ter existido uma maior preocupação em realizar culturas biliares em casos de mucocelo biliar. Ainda assim, nenhum dos casos em que se identificou ecograficamente a presença de mucocelo biliar apresentou cultura positiva. As culturas positivas em casos de mucocelo constituem um achado inconsistente. Até hoje, os estudos relativos a mucocelo biliar ou incluindo casos de mucocelo, com realização concomitante de cultura biliar, apresentaram desde 3 a 67% de resultados positivos (Pike et al. 2004; Aguirre et al. 2007; Crews et al. 2009; Malek et al. 2013; Mizutani et al. 2017; Wennogle et al. 2019). Besso et al. (2000) sugeriram a avaliação de presença bacteriana em todos os casos de mucocelo. A grande percentagem de animais que realizaram cultura biliar com evidência ecográfica de mucocelo biliar pode ser um reflexo desta mesma indicação, assim como dos resultados positivos em estudos anteriores. Recentemente, a utilização da técnica FISH demonstrou maior sensibilidade para deteção de bactérias, comparativamente à realização de culturas (Wennogle et al. 2019). A prevalência de culturas positivas nestes casos pode ser influenciada pela presença de comorbilidades,

nomeadamente colecistite e colelitíase. A presença de colecistite tem sido relatada em 17 a 68% dos cães com mucocelo biliar (Besso et al. 2000; Pike et al. 2004; Malek et al. 2013; Wennogle et al. 2019; Rogers et al. 2020).

A presença de litíase verificou-se em 13,6% da população em estudo. Anteriormente, Byfield et al. (2017) identificaram a sua presença em 10% de uma população de gatos com suspeita de doença hepatobiliar, sujeita a colecistocentese percutânea ecoguiada. Por sua vez, Schiborra et al. (2017) identificaram a sua presença apenas em 4,4% de uma população mista, também Policelli Smith et al. (2017), considerando cães e gatos, verificaram a sua presença em 20,1% da população. A colelitíase é, muitas vezes, considerada um achado incidental nas duas espécies estudadas, em qualquer porção da árvore biliar (Penninck and D'Anjou 2015). Um processo inflamatório concomitante é frequentemente reconhecido em gatos (Eich and Ludwig 2002). A cultura biliar, realizada em contexto de investigação de casos de colelitíase, apresenta, por vezes, resultados positivos, com indicação de presença bacteriana nos casos respetivos (Eich and Ludwig 2002; Baker et al. 2011; Ward et al. 2020). Ward et al. (2020) verificaram que num pequeno número de casos de colelitíase sintomática, no cão, alguns animais apresentaram cultura biliar positiva. Neste estudo, apenas um dos casos com presença de litíase apresentou cultura biliar positiva, não se verificando estatisticamente significativo.

Excluindo a presença de sedimento biliar e litíase, a alteração do conteúdo biliar normal verificou-se em um caso (4,6%). Por esta razão, não foram realizadas análises estatísticas. Ecograficamente, verificou-se uma zona/linha hiperecogénica, associada a sombra distal. Existe uma manifestação rara de colecistite aguda (colecistite enfisematosa), onde é observada uma interface gasosa na zona da VB, associada a uma sombra distal variável (Aguirre 2017). O gás intraluminal localiza-se da zona não dependente da VB, permitindo a sua diferenciação de outros achados (sedimento e litíase) (Nyland et al. 2015). Neste caso, o animal apresentou uma cultura biliar positiva, com isolamento de *E.coli*. Esta alteração ecográfica está relacionada com presença gasosa, característica destes casos, devido a microrganismos produtores de gás, onde as bactérias *E.coli* e *Clostridium*, representam as principais bactérias isoladas (Aguirre 2017).

A colheita de amostras foi realizada através de colecistocentese, com auxílio ecográfico ou em contexto cirúrgico. No caso do cão, a colheita foi realizada maioritariamente em contexto cirúrgico. No caso do gato, a colheita foi realizada, essencialmente, de forma percutânea, com auxílio ecográfico. Em todos os casos de colecistocentese ecoguiada, a mesma realizou-se através de uma punção direta da vesícula, algo que nem sempre se verifica noutros estudos, onde a abordagem escolhida é, muitas vezes, transhepática, por forma a tirar partido da proximidade da VB com o tecido hepático. A abordagem utilizada,

neste estudo, é considerada segura sempre que realizada com agulhas de calibre adequado (Rothuizen 2005; Rothuizen et al. 2006; Mattoon et al. 2015).

A prevalência de culturas positivas na população em estudo foi de 22,7%; um resultado semelhante a outros estudos realizados com as duas espécies (Peters et al. 2016; Pashmakova et al. 2017; Schiborra et al. 2017). Todavia, verificou-se que os resultados positivos foram mais frequentes em cães do que em gatos (30,7% em relação a 11,1%). Esta observação não coincide com os resultados obtidos em estudos anteriores, em que os resultados positivos de culturas biliares em cães situaram-se entre 19 e 28%; nos gatos, situaram-se entre 14 e 36%. (Wagner et al. 2007; Crews et al. 2009; Peters et al. 2016; Byfield et al. 2017; Policelli Smith et al. 2017). Nos estudos anteriores, inclusivos das duas espécies, os gatos apresentaram maior frequência de resultados positivos em relação aos cães (Policelli Smith et al. 2017); deste modo, no caso dos gatos, seria de esperar uma prevalência de culturas positivas superior à observada. De facto, o gato apresenta uma anatomia específica; A comunicação do DBC e o duodeno é anatomicamente distinta nas duas espécies. Num cão de porte médio, o DBC tem aproximadamente 5 cm de comprimento e 2,5 mm de diâmetro e entra no duodeno a cerca de 1,5 a 6 cm de distância do piloro, na papila duodenal maior. Na junção com o duodeno, o DBC realiza um trajeto intramural de 2 cm, abrindo-se, depois, na proximidade do ducto pancreático menor. O ducto pancreático acessório abre-se no duodeno, alguns centímetros distalmente (Center 2009). O DBC no gato é mais longo e tortuoso. Nesta espécie, o ducto biliar funde-se com o ducto pancreático, antes da sua entrada na papila duodenal, caudalmente ao piloro. Nalguns gatos, o ducto pancreático maior abre-se separadamente, mas adjacientemente ao DBC. Em 20% dos gatos, a aproximadamente 2 cm, caudalmente à papila duodenal maior, entra o ducto pancreático acessório, que se abre na papila duodenal menor (Etue et al. 2001, Center 2009). A fusão do DBC com o ducto pancreático antes da entrada na papila duodenal maior, pode predispor a um refluxo de secreções pancreáticas para o DBC, podendo resultar em situações de colestase e infeção ascendente. Também, em relação ao cão, o gato apresenta uma maior concentração de bactérias no intestino delgado (Johnston et al. 2001), o que constitui um fator agravante nesse refluxo. O conteúdo duodenal apresenta, então, uma dualidade de acesso aos sistemas pancreático e biliar, apresentando-se, teoricamente, mais patológico no gato em comparação com outras espécies (Brain et al. 2006). Seria ainda de esperar uma frequência superior devido à elevada incidência de colangite nesta espécie, que se apresenta como a doença inflamatória hepatobiliar mais relevante, neste caso, com maior importância dada à colangite neutrofílica (Hirose et al. 2014; Bayton et al. 2018), a qual apresenta como causa uma infeção bacteriana ascendente, de origem gastrointestinal (Brain et al. 2006). As diferenças relativamente a outros estudos podem estar relacionadas com diferenças nos protocolos de cultura utilizados nos mesmos, e ainda com a existência de falsos-negativos associados à

utilização prévia de antibióticos ou com presença de microrganismos fastidiosos (por exemplo, *Helicobacter spp.*) (Otte et al. 2012).

Relativamente ao cão, os valores observados são mais elevados, comparativamente aos documentados anteriormente (19-28%) (Wagner et al. 2007; Crews et al. 2009; Peters et al. 2016; Policelli Smith et al. 2017). Neste estudo, não se explorou, para além de alterações ecográficas, as razões que levaram à realização de colecistocentese e posterior cultura de bÍlis. Pode ter existido suspeita clínica de infeção e esta ter influenciado a realização do procedimento e o exame mencionado. Estima-se que a prevalência de culturas biliares positivas seja superior à de uma população normal, pela razão exposta. É importante realçar que, nos últimos anos, vem a verificar-se uma frequência superior de colangite/ colangiohepatite/ colecistite em cães (Hirose et al. 2014; Tamborini et al. 2016) em comparação com estudos anteriores (O'Neill et al. 2006). A suspeita destas afeções pode ter influenciado a realização das culturas biliares. Alguns autores sugerem que a bÍlis canina e felina sejam estéreis na ausência de doença da árvore biliar (Savary-Bataille et al. 2003; Center 2012); não obstante, verificou-se presença bacteriana biliar transitória e autolimitada em cães saudáveis (Kook et al. 2010). O presente estudo não procurou avaliar o impacto das culturas biliares positivas em cada caso, no entanto, parece importante realçar que a prevalência obtida neste estudo em cães (30,7%) é superior à mais elevada, observada anteriormente (Wagner et al. 2007), e ainda que as culturas identificaram apenas culturas singulares. Em estudos anteriores, uma maior presença de culturas mistas no cão suscitou algumas dúvidas no que concerne à relevância a atribuir aos resultados dessas culturas (Wagner et al. 2007); porém, essa observação não se verificou neste estudo.

O valor de prevalência de culturas positivas, no presente estudo, pode ainda ter sido influenciado por alguns fatores. Assim, devido aos critérios de inclusão e exclusão, podem não ter sido contabilizados todos os casos de cultura positiva, no período considerado; por isso, a prevalência real pode ser diferente à calculada neste estudo. A administração de antimicrobianos, prévia à realização de colecistocentese e cultura, também pode ter influenciado o valor da prevalência. Por vezes, estes animais surgem com historial prolongado de alterações biliares, muitos deles já sujeitos a períodos de antibioterapia (Tamborini et al. 2016). Em 68,2% dos casos, realizou-se uma colheita cirúrgica; neste contexto, importa referir que está recomendada a utilização de antibioterapia profilática em animais submetidos a cirurgias biliares (Radlinsky and Fossum 2019). Assim, é provável que os casos cirúrgicos estivessem já sob o efeito de antibioterapia. Estes resultados reforçam a importância da análise microbiológica da bÍlis como parte de uma avaliação completa, em animais com suspeita de afeções hepatobiliares.

No que concerne às bactérias isoladas, o presente estudo encontra-se de acordo com as observações de outros estudos (Brain et al. 2006; Wagner et al. 2007; Lawrence et al.



2015; Peters et al. 2016; Tamborini et al. 2016; Byfield et al. 2017; Pashmakova et al. 2017; Policelli Smith et al. 2017; Schiborra et al. 2017; Harrison et al. 2018). As bactérias isoladas corresponderam a bactérias de origem entérica. A mais frequente foi a *E. coli*, presente em duas das culturas positivas, seguida de *Enterococcus spp.*, *Clostridium spp.* e *Salmonella spp.*, todas isoladas apenas uma vez. A *E.coli* e o *Enterococcus spp* são, com frequência, as bactérias mais isoladas. A importância da realização de culturas de bÍlis em condições de aerobiose e anaerobiose voltou a ser evidenciada, como já havia sido por outros autores (Wagner et al. 2007; Lawrence et al. 2015; Tamborini et al. 2016). Wagner et al. (2007) verificaram que em 36% de culturas positivas, 26% eram devidas a organismos anaeróbios. Neste estudo, em 5 isolados bacterianos, uma das bactérias (*Clostridium spp.*) é um anaeróbio estrito, correspondendo a 20% dos isolados. A presença de anaeróbios pode ainda estar subestimada, uma vez que nem todos os animais realizaram culturas em ambas as condições, aeróbias e anaeróbias, com 22,7% dos casos apenas com culturas realizadas em condições aeróbias. Deste modo, pode ter existido falha na identificação destas bactérias, no caso de estarem presentes na amostra. A presença de *Salmonella* já havia sido identificada em outros casos (Timbs et al. 1974; Brain et al. 2006; Schiborra et al. 2017). É de realçar que todas as culturas apresentaram apenas um isolado, sem existência de culturas mistas, como foi mencionado anteriormente para o cão. Assim, não se observou diferenças entre cão e gato na prevalência de um único isolado, em relação a múltiplas espécies bacterianas resultantes da cultura de bÍlis (Policelli Smith et al. 2017). Um estudo observou diferenças, neste parâmetro, entre as duas espécies (Wagner et al. 2007).

A divisão da população em dois grupos permitiu verificar que nos cães foram mais frequentes do que nos gatos as seguintes alterações: o espessamento da parede VB, a irregularidade da superfície luminal, a alteração da ecogenicidade da parede da VB, a imobilidade do sedimento e a presença de mucocelo biliar. Também nos cães foi frequente um maior número de alterações ecográficas relativamente aos gatos, apresentando uma média superior – 6,3 alterações contra 3,1 alterações no gato. Estes dados são passíveis de indiciar que um menor número de alterações ecográficas na árvore biliar dos gatos pode sustentar o processo de decisão do clínico, relativamente à realização de colheita e posterior cultura biliar. Ainda assim podem ter existido outras alterações ecográficas não relacionadas com a árvore biliar ou outras alterações não relacionadas com o exame ecográfico, que influenciaram a realização de cultura nesta espécie, não tendo sido as mesmas exploradas neste estudo. No caso do gato, em casos de colangite, por exemplo, podem existir alterações do volume hepático, alterações na ecogenicidade do parênquima (Marolf et al. 2012), que, no presente estudo, não foram avaliadas pela restrição a alterações da árvore biliar.

A presença de mucocelo biliar e imobilidade de sedimento foram mais frequentes no cão, mas a imagem ecográfica de mucocelo pressupõe a presença de sedimento biliar imóvel.

A presença de mucocelo em gato é rara, havendo poucos casos descritos (Bennett et al. 2007; Gaillot et al. 2007; Woods et al. 2012). Esta diferença é atribuída essencialmente à existência de um número menor de glândulas secretoras de mucina na VB do gato (Nyland et al. 2015). Assim, conforme ao expectável, nenhum dos casos felinos apresentou uma imagem ecográfica compatível com o aspeto ecográfico típico de mucocelo biliar como no cão. Contudo, um dos casos apresentou imobilidade do sedimento, o que constitui uma alteração ecográfica fundamental na identificação de um mucocelo, como referido anteriormente. No gato, a imagem ecográfica desta afeção tem demonstrado grande variação. A mesma pode apresentar-se sem evidência de padrão estrelado, apenas com sedimento ecogénico organizado e imóvel ou sem qualquer alteração, onde, normalmente, o diagnóstico se realiza através de histopatologia (Bennett et al. 2007; Gaillot et al. 2007; Woods et al. 2012). No cão, o padrão ecográfico típico é um padrão estrelado hiperecogénico, com a aparência a variar com cronicidade do processo (Choi et al. 2014).

Por fim, importa realçar que os animais do presente estudo apenas realizaram uma cultura. Alguns estudos tornaram evidente que a resolução dos sinais clínicos antecede a resolução da bacteriobilia (O'Neill et al. 2006; Lawrence et al. 2015), reforçando a importância da realização de novas culturas, em casos positivos submetidos a tratamento, por forma a fazer um bom acompanhamento do caso. No entanto, no presente estudo, em nenhum dos casos se registou nova cultura. Noutros estudos, verificaram-se ainda alterações nos padrões de resistência de algumas bactérias, em casos em que se fez nova cultura (Tamborini et al. 2016). Assim, teria sido importante e interessante a realização de novas culturas nos animais onde o resultado se tinha revelado positivo.

As limitações associadas à realização deste estudo foram várias, estando, na sua maioria, relacionadas com a natureza retrospectiva do mesmo. O número da amostra foi reduzido; por esta razão, optou-se por não se dividir a amostra em grupos (cães e gatos), no que respeita à avaliação da associação das alterações ecográficas com o resultado da cultura, pretendendo-se, desta forma, aumentar o tamanho da amostra. Por esta razão, não se fez uma maior restrição aos critérios de inclusão. Considerando que a ecografia constitui uma modalidade imagiológica muito dependente do operador, e existindo, neste caso, vários operadores, os relatórios, imagens e vídeos, que fizeram parte do presente estudo, são alvo de algum grau de subjetividade. Além disso, não existiu uniformidade no protocolo ecográfico, bem como nos cortes realizados. Por conseguinte, houve dificuldade acrescida no estabelecimento dos parâmetros ecográficos a avaliar, acrescentando a opção de não se ter considerado o valor numérico dos parâmetros espessura da parede da VB e dilatação do DBC, por impossibilidade de uniformizar o processo de medição. Importa referir que o estudo poderia ter integrado outras alterações ecográficas, no entanto, optou-se por integrar alterações avaliadas de forma mais sistemática. Nem sempre foi possível obter as imagens e

o relatório relativos ao dia da colheita da amostra biliar, pois, em alguns casos, existiu um período de internamento anterior à colheita. Neste período, foram realizadas ecografias seriadas, não existindo, por vezes, imagens ecográficas respeitantes ao dia da colheita. Os protocolos de cultura utilizados, devido à recolha de informação em dois laboratórios, são, naturalmente, diferentes, por consequência não houve uniformização dos protocolos de cultura. A avaliação citológica fornece informações complementares à cultura biliar, tendo demonstrado utilidade no diagnóstico de 30% dos casos, num estudo anterior (Byfield et al. 2017). Segundo Pashmakova et al. (2017) existe concordância substancial entre os dados microscópicos e as culturas biliares, relativamente a deteção de bacteriobilia, sobretudo, se não tiver existido a administração de antibióticos dentro das 24 horas anteriores à colheita biliar. A escassez de casos com cultura e citologia impediu a inclusão e avaliação da importância desta análise microbiológica, no presente estudo.

O foco do presente estudo foi na avaliação ecográfica destes animais, desta forma não se procurou estabelecer potenciais alterações clínicas preditivas de cultura biliar positiva ou definir a presença de doenças concomitantes. Outros estudos avaliaram associações entre diversas variáveis, nomeadamente citologia biliar, cultura biliar, alterações bioquímicas e hematológicas (Wagner et al. 2007; Lawrence et al. 2015; Peters et al. 2016).

## **5. Conclusão**

As alterações ecográficas, ainda que sem associação estatística, como espessamento da parede da VB, ecogenicidade aumentada da parede da VB, irregularidade da superfície luminal da VB, sedimento biliar imóvel apresentaram-se nos casos positivos de forma sistemática e, embora se apresentem igualmente em casos negativos, apresentando-se como alterações de baixa especificidade, podem constituir indicação para a realização de colecistocentese e posterior realização de cultura. A elevada frequência de alterações ecográficas biliares na população indica que a realização de uma ecografia biliar constituiu um passo importante na decisão de realização da cultura biliar, ainda que as alterações observadas não tenham mostrado associação com resultado da cultura.

No presente estudo verificou-se uma frequência superior de casos positivos nos cães, face ao anteriormente observado, no entanto, o número de casos foi muito reduzido. Ainda assim, esta prevalência superior, juntamente com a presença apenas de culturas singulares, alerta para a importância da realização de culturas também no cão, ainda que a importância de dar a culturas biliares positivas, nesta espécie, seja, por vezes, questionada. Sugere-se que a sua relevância seja avaliada considerando outros parâmetros clínicos, em estudos posteriores. Pelo contrário, no gato, verificou-se uma prevalência inferior à observada em estudos anteriores. A avaliação ecográfica da árvore biliar é muito importante, no entanto, pode constituir apenas um dos critérios no processo de decisão clínico para a realização de

culturas biliares, em alguns casos; uma vez que se verificou, em média, um número superior de alterações nos cães em comparação com os gatos. As bactérias identificadas neste estudo estão de acordo com as bactérias identificadas anteriormente, sendo de origem entérica.

Seria de interesse uma abordagem alargada e multicêntrica, atendendo a que, no período considerado neste estudo, apenas se realizaram 31 culturas. Esta abordagem poderia integrar alterações físicas e laboratoriais, alterações imagiológicas, alterações citológicas e cultura biliar, alterações histológicas e posterior seguimento dos casos, permitindo a caracterização dos casos positivos.

Em relação especificamente à avaliação ecográfica, é importante salientar que o presente estudo retrospectivo, tanto quanto é do conhecimento da autora, representa dos primeiros estudos portugueses restritos a esta temática. Neste âmbito, poderá ser relevante a realização de um estudo prospetivo, para mais conclusões; incluindo um maior número de casos, com estabelecimento prévio de protocolos ecográficos, parâmetros a avaliar e iguais condições de cultura, assim como a avaliação de outras alterações ecográficas, não restritas apenas à VB.

## 6. Referências bibliográficas

- Aguirre AL. 2017. Diseases of the Gallbladder and Extrahepatic Biliary System. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Côté E, editors. Textbook of Veterinary Internal Medicine. 8th ed. USA: Missouri: Elsevier. p. 4075–4088.
- Aguirre AL, Center SA, Randolph JE, Yeager AE, Keegan AM, Harvey HJ, Erb HN. 2007. Gallbladder disease in Shetland Sheepdogs: 38 Cases (1995-2005). *J Am Vet Med Assoc*. 231(1):79–88.
- Allerton F, Swinbourne F, Barker L, Black V, Kathrani A, Tivers M, Henriques T, Kisielewicz C, Dunning M, Kent A. 2018. Gall bladder mucocoeles in Border terriers. *J Vet Intern Med*. 32(5):1618–1628.
- Armstrong JA, Taylor SM, Tryon KA, Porter CD. 2000. Emphysematous cholecystitis in a Siberian husky. *Can Vet J*. 41(1):60–62.
- Baker SG, Mayhew PD, Mehler SJ. 2011. Choledochotomy and primary repair of extrahepatic biliary duct rupture in seven dogs and two cats. *J Small Anim Pract*. 52(1):32–37.
- Bayton WA, Westgarth C, Scase T, Price DJ, Bexfield NH. 2018. Histopathological frequency of feline hepatobiliary disease in the UK. *J Small Anim Pract*. 59(7):404–410.
- Bennett SL, Milne M, Slocombe RF, Landon BP. 2007. Gallbladder mucocoele and concurrent hepatic lipidosis in a cat. *Aust Vet J*. 85(10):397–400.
- Besso JG, Wrigley RH, Gliatto JM, Webster CRL. 2000. Ultrasonographic appearance and clinical findings in 14 dogs with gallbladder mucocoele. *Vet Radiol Ultrasound*. 41(3):261–271.
- Boland L, Beatty J. 2017. Feline Cholangitis. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract*. 47(3):703–724.
- Brain PH, Barrs VR, Martin P, Baral R, White JD, Beatty JA. 2006. Feline cholecystitis and acute neutrophilic cholangitis: Clinical findings, bacterial isolates and response to treatment in six cases. *J Feline Med Surg*. 8(2):91–103.
- Brömel C, Barthez PY, Lévêillé R, Scrivani P V. 1998. Prevalence of gallbladder sludge in dogs as assessed by ultrasonography. *Vet Radiol Ultrasound*. 39(3):206–21.
- Buote NJ, Mitchell SL, Penninck D, Freeman LM, Webster CRL. 2006. Cholecystoenterostomy for treatment of extrahepatic biliary tract obstruction in cats: 22 cases (1994-2003). *J Am Vet Med Assoc*. 228(9):1376–1382.
- Burchell RK, Thornton L, Lim CK, Murakami M, Nakamura Y, Gal A. 2019. Presumptive migrating gall bladder mucocoele in two dogs with gall bladder rupture. *J Small Anim Pract*. 60(1):58–61.
- Byfield VL, Callahan Clark JE, Turek BJ, Bradley CW, Rondeau MP. 2017. Percutaneous cholecystocentesis in cats with suspected hepatobiliary disease. *J Feline Med Surg*. 19(12):1254–1260.
- Callahan Clark JE, Haddad JL, Brown DC, Morgan MJ, Van Winkle TJ, Rondeau MP. 2011. Feline cholangitis: A necropsy study of 44 cats (1986-2008). *J Feline Med Surg*. 13(8):570–576.
- Center SA. 2009. Diseases of the Gallbladder and Biliary Tree. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract*. 39(3):543–598.
- Center SA. 2012. Hepatobiliary Infections. In: Greene CE, editor. Infectious diseases

of the dog and cat. 4th ed. USA: Missouri: Elsevier Saunders. p. 981–1012.

Choi J, Kim A, Keh S, Oh J, Kim H, Yoon J. 2014. Comparison between ultrasonographic and clinical findings in 43 dogs with gallbladder mucoceles. *Vet Radiol Ultrasound*. 55(2):202–207.

Cook AK, Jambhekar A V., Dylewski AM. 2016. Gallbladder sludge in dogs: Ultrasonographic and Clinical Findings in 200 Patients. *J Am Anim Hosp Assoc*. 52(3):125–131.

Crews LJ, Feeney DA, Jessen CR, Rose ND, Matise I. 2009. Clinical, ultrasonographic, and laboratory findings associated with gallbladder disease and rupture in dogs: 45 cases (1997-2007). *J Am Vet Med Assoc*. 234(3):359–366.

Csendes A, Fernandez M, Uribe P. 1975. Bacteriology of the gallbladder bile in normal subjects. *Am J Surg*. 129(6):629–631.

Day MJ. 1998. Immunohistochemical characterization of the lesions of feline progressive lymphocytic cholangitis/cholangiohepatitis. *J Comp Pathol*. 119(2):135–147.

Demonaco SM, Grant DC, Larson MM, Panciera DL, Leib MS. 2016. Spontaneous Course of Biliary Sludge Over 12 Months in Dogs with Ultrasonographically Identified Biliary Sludge. *J Vet Intern Med*. 30(3):771–778.

Eich CS, Ludwig LL. 2002. The surgical treatment of cholelithiasis in cats: A study of nine cases. *J Am Anim Hosp Assoc*. 38(3):290–296.

Etue SM, Penninck DG, Labato MA, Pearson S, Tidwell A. 2001. Ultrasonography of the normal feline pancreas and associated anatomic landmarks: A prospective study of 20 cats. *Vet Radiol Ultrasound*. 42(4):330–336.

Evans H, Lahunta A de. 2013. The Digestive Apparatus and Abdomen. In: Miller's *Anatomy of the Dog*. 4th ed. USA: Missouri: Elsevier Saunders. p. 281–336.

Forman MA. 2017. Feline Inflammatory/Infectious Hepatic Disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Côté E, editors. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. Vol. 2. 8th ed. USA: Missouri: Elsevier. p. 3982–3996.

Gaillot HA, Penninck DG, Webster CRL, Crawford S. 2007. Ultrasonographic features of extrahepatic biliary obstruction in 30 cats. *Vet Radiol Ultrasound*. 48(5):439–447.

Gookin JL, Correa MT, Peters A, Malueg A, Mathews KG, Cullen J, Seiler G. 2015. Association of Gallbladder Mucocele Histologic Diagnosis with Selected Drug Use in Dogs: A Matched Case-Control Study. *J Vet Intern Med*. 29(6):1464–1472.

Görlinger S, Rothuizen J, Bunch S, Ingh TSGAM. 2003. Congenital Dilatation of the Bile Ducts (Caroli's Disease) in Young Dogs. *J Vet Intern Med*. 17(1):28–32.

Griffin S. 2019. Feline abdominal ultrasonography: what's normal? what's abnormal? The liver. *J Feline Med Surg*. 21(1):12–24.

Harran N, D'Anjou MA, Dunn M, Beauchamp G. 2011. Gallbladder sludge on ultrasound is predictive of increased liver enzymes and total bilirubin in cats. *Can Vet J*. 52(9):999–1003.

Harrison JL, Turek BJ, Brown DC, Bradley C, Callahan Clark J. 2018. Cholangitis and Cholangiohepatitis in Dogs: A Descriptive Study of 54 Cases Based on Histopathologic Diagnosis (2004–2014). *J Vet Intern Med*. 32(1):172–180.

Herdt TH, Sayegh AI. 2013. Physiology of the Gastrointestinal Tract. In: Klein BG, editor. *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology*. 5th ed. USA: Missouri: Elsevier

Saunders. p. 263–356.

Hirose N, Uchida K, Kanemoto H, Ohno K, Chambers JK, Nakayama H. 2014. A retrospective histopathological survey on canine and feline liver diseases at the university of Tokyo between 2006 and 2012. *J Vet Med Sci.* 76(7):1015–1020.

Hittmair KM, Vielgrader HD, Loupal G. 2001. Ultrasonographic evaluation of gallbladder wall thickness in cats. *Vet Radiol.* 42(2):149–155.

van den Ingh TSGAM, Cullen JM, Twedt DC, Van Winkle T, Desmet J, Rothuizen J. 2006. Morphological classification of biliary disorders of the canine and feline liver. In: *WSAVA Standards for Clinical and Histological Diagnosis of Canine and Feline Liver Diseases*. 1st ed. Saunders Elsevier. p. 61–76.

Jaffey JA, Graham A, VanEerde E, Hostnik E, Alvarez W, Arango J, Jacobs C, DeClue AE. 2018. Gallbladder Mucocele: Variables Associated with Outcome and the Utility of Ultrasonography to Identify Gallbladder Rupture in 219 Dogs (2007–2016). *J Vet Intern Med.* 32(1):195–200.

Johnston KL, Swift NC, Forster-Van Hijfte M, Rutgers HC, Lamport A, Ballèvre O, Batt RM. 2001. Comparison of the bacterial flora of the duodenum in healthy cats and cats with signs of gastrointestinal tract disease. *J Am Vet Med Assoc.* 218(1):48–51.

Kanemoto H, Fukushima K, Tsujimoto H, Ohno K. 2017. Intrahepatic cholelithiasis in dogs and cats: A case series. *Can Vet J.* 58(9):971–973.

Kim H-Y. 2013. Statistical notes for clinical researchers: assessing normal distribution (2) using skewness and kurtosis. *Restor Dent Endod.* 38(1):52.

Kook PH, Schellenberg S, Grest P, Reusch CE, Corboz L, Glaus TM. 2010. Microbiologic evaluation of gallbladder bile of healthy dogs and dogs with iatrogenic hypercortisolism: A pilot study. *J Vet Intern Med.* 24(1):224–228.

Kutsunai M, Kanemoto H, Fukushima K, Fujino Y, Ohno K, Tsujimoto H. 2014. The association between gall bladder mucoceles and hyperlipidaemia in dogs: A retrospective case control study. *Vet J.* 199(1):76–79.

Larson MM. 2016. Ultrasound Imaging of the Hepatobiliary System and Pancreas. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract.* 46(3):453–480.

Larson MM. 2020. Liver. In: Holland M, Hudson J, editors. *Feline Diagnostic Imaging*. 1st ed. USA: New Jersey: Wiley Blackwell. p. 381–406.

Lawrence YA, Ruau CG, Nemanic S, Milovancev M. 2015. Characterization, treatment, and outcome of bacterial cholecystitis and bactibilia in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 246(9):982–989.

Léveillé R, Biller DS, Shiroma JT. 1996. Sonographic evaluation of the Common Bile Duct in cats. *J Vet Intern Med.* 10(5):296–299.

Lidbury JA, Steiner JM. 2013. Liver. In: Washabau RJ, Day MJ, editors. *Canine and Feline Gastroenterology*. 1st ed. USA: Missouri: Elsevier Saunders. p. 863–875.

Ludwig LL, McLoughlin MA, Graves TK, Crisp MS. 1997. Surgical treatment of bile peritonitis in 24 dogs and 2 cats: A retrospective study (1987-1994). *Vet Surg.* 26(2):90–98.

Malek S, Sinclair E, Hosgood G, Moens NMM, Baily T, Boston SE. 2013. Clinical Findings and Prognostic Factors for Dogs Undergoing Cholecystectomy for Gall Bladder Mucocele. *Vet Surg.* 42(4):418–426.

Marolf AJ, Leach L, Gibbons DS, Bachand A, Twedt D. 2012. Ultrasonographic findings

of feline cholangitis. *J Am Anim Hosp Assoc.* 48(1):36–42.

Mattoon JS, Pollard R, Wills T, Nyland TG. 2015. Ultrasound-Guided Aspiration and Biopsy Procedures. In: *Small Animal Diagnostic Ultrasound*. 3rd ed. USA: Missouri: Elsevier Saunders. p. 50–77.

Mayhew PD, Holt DE, Mclear RC, Washabau RJ. 2002. Pathogenesis and outcome of extrahepatic biliary obstruction in cats. *J Small Anim Pract.* 43(6):247–253.

McAllister H, Kealy KJ. 2011. The abdomen. In: *Diagnostic radiology & ultrasonography of the dog and cat*. 5th ed. St. Louis. p. 23–198.

Mesich MLL, Mayhew PD, Paek M, Holt DE, Brown DC. 2009. Gall bladder mucoceles and their association with endocrinopathies in dogs: A retrospective case-control study. *J Small Anim Pract.* 50(12):630–635.

Mizutani S, Torisu S, Kaneko Y, Yamamoto S, Fujimoto S, Ong BHE, Naganobu K. 2017. Retrospective analysis of canine gallbladder contents in biliary sludge and gallbladder mucoceles. *J Vet Med Sci.* 79(2):366–374.

Moentk J, Biller DS. 1993. Bilobed gallbladder in a cat: ultrasonographic appearance. *Vet Radiol Ultrasound.* 34(5):354–356.

Moores AL, Gregory SP. 2007. Duplex gall bladder associated with choledocholithiasis, cholecystitis, gall bladder rupture and septic peritonitis in a cat: Case Report. *J Small Anim Pract.* 48(7):404–409.

Neel JA, Tarigo J, Grindem CB. 2006. Gallbladder aspirate from a dog. *Vet Clin Pathol.* 35(4):467–470.

Neer TM. 1992. A Review of Disorders of the Gallbladder and Extrahepatic Biliary Tract in the Dog and Cat. *J Vet Intern Med.* 6(3):186–192.

Newton PL, Fry DR. 2018. Successful treatment of *Providencia rettgeri* cholecystitis and neutrophilic cholangitis in a cat. *J Feline Med Surg Open Reports.* 4(1):205511691775076.

Niza MMRE, Ferreira AJA, Peleteiro MC, Vilela CL. 2004. Bacteriological study of the liver in dogs. *J Small Anim Pract.* 45(8):401–404.

Nyland TG, Gillett NA. 1982. Sonographic evaluation of experimental bile duct ligation in the dog. *Vet Radiol.* 23(6):252–260.

Nyland TG, Koblik PD, Tellyer SE. 1999. Ultrasonographic evaluation of biliary cystadenomas in cats. *Vet Radiol Ultrasound.* 40(3):300–306.

Nyland TG, Mattoon JS, Larson MM. 2015. Liver. In: *Small Animal Diagnostic Ultrasound*. 3rd ed. USA: Missouri: Elsevier Saunders. p. 332–399.

O'Neill EJ, Day MJ, Hall EJ, Holden DJ, Murphy KF, Barr FJ, Pearson GR. 2006. Bacterial cholangitis/cholangiohepatitis with or without concurrent cholecystitis in four dogs. *J Small Anim Pract.* 47(6):325–335.

Otte CMA, Gutiérrez OP, Favier RP, Rothuizen J, Penning LC. 2012. Detection of bacterial DNA in bile of cats with lymphocytic cholangitis. *Vet Microbiol.* 156(1–2):217–221.

Pashmakova MB, Piccione J, Bishop MA, Nelson WR, Lawhon SD. 2017. Agreement between microscopic examination and bacterial culture of bile samples for detection of bactibilia in dogs and cats with hepatobiliary disease. *J Am Vet Med Assoc.* 250(9):1007–1013.

Pazzi P, Gamberini S, Buldrini P, Gullini S. 2003. Biliary sludge: The sluggish gallbladder. *Dig Liver Dis.* 35(SUPPL. 3):39–45.



Penninck D, D'Anjou M-A. 2015. Liver. In: Atlas of Small Animal Ultrasonography. 2nd ed. UK: Oxford: Wiley Blackwell. p. 183–238.

Peters LM, Glanemann B, Garden OA, Szladovits B. 2016. Cytological Findings of 140 Bile Samples from Dogs and Cats and Associated Clinical Pathological Data. *J Vet Intern Med.* 30(1):123–131.

Pike FS, Berg J, King NW, Penninck DG, Webster CRL. 2004. Gallbladder mucocele in dogs: 30 Cases (2000-2002). *J Am Vet Med Assoc.* 224(10):1615–1622.

Policelli Smith R, Gookin JL, Smolski W, Di Cicco MF, Correa M, Seiler GS. 2017. Association between Gallbladder Ultrasound Findings and Bacterial Culture of Bile in 70 Cats and 202 Dogs. *J Vet Intern Med.* 31(5):1451–1458.

Radlinsky M, Fossum TW. 2019. Surgery of the Extrahepatic Biliary System. In: Small Animal Surgery. 5th ed. Philadelphia, PA: Elsevier. p. 571–585.

Ramery E, Papakonstantinou S, Pinilla M, McAllister H, Jahns H, Gallagher B, O'Brien PJ. 2012. Bacterial cholangiohepatitis in a dog. *Can Vet J.* 53(4):423–425.

Roberts ML, Rine S, Lam A. 2018. Caroli's-type ductal plate malformation and a portosystemic shunt in a 4-month-old kitten. *J Feline Med Surg Open Reports.* 4(2):205511691881232.

Rogers E, Jaffey JA, Graham A, Hostnik ET, Jacobs C, Fox-Alvarez W, Van Eerde E, Arango J, Williams F, DeClue AE. 2020. Prevalence and impact of cholecystitis on outcome in dogs with gallbladder mucocele. *J Vet Emerg Crit Care.* 30(1):97–101.

Rothuizen J. 2005. Diseases of the biliary system. In: Hall EJ, Simpson JW, Williams DA, editors. Canine and Feline BSAVA Manual of Canine and Feline. 2nd ed. UK: Gloucester: British Small Animal Veterinary Association. p. 269–278.

Rothuizen J. 2009. Important Clinical Syndromes Associated with Liver Disease. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract.* 39(3):419–437.

Rothuizen J, Desmet J, van den Ingh TSGAM, Twedt DC, Bunch S, Washabau RJ. 2006. Sampling and handling of liver tissue. In: Wsava standards for clinical and histological diagnosis of canine and feline liver disease. 1st ed. Elsevier. p. 5–14.

Sato K, Sakai M, Hayakawa S, Sakamoto Y, Kagawa Y, Kutara K, Teshima K, Asano K, Watari T. 2018. Gallbladder Agenesis in 17 Dogs: 2006–2016. *J Vet Intern Med.* 32(1):188–194.

Savary-Bataille KCM, Bunch SE, Spaulding KA, Jackson MW, Law J Mac, Stebbins ME. 2003. Percutaneous Ultrasound-Guided Cholecystocentesis in Healthy Cats. *J Vet Intern Med.* 17(3):298–303.

Schiborra F, McConnell JF, Maddox TW. 2017. Percutaneous ultrasound-guided cholecystocentesis: complications and association of ultrasonographic findings with bile culture results. *J Small Anim Pract.* 58(7):389–394.

Secchi P, Pöppel AG, Ilha A, Kunert Filho HC, Lima FES, García AB, González FHD. 2012. Prevalence, risk factors, and biochemical markers in dogs with ultrasound-diagnosed biliary sludge. *Res Vet Sci.* 93(3):1185–1189.

Singh B. 2018. The Digestive Apparatus. In: Dyce, Sack, and Wensing's Textbook of Veterinary Anatomy. 5th ed. USA: Missouri: Elsevier. p. 159–238.

Spaulding KA. 1993. Ultrasound corner: Gallbladder wall thickness. *Vet Radiol.* 34(4):270–272.

Sung JY, Costerton JW, Shaffer EA. 1992. Defense system in the biliary tract against bacterial infection. *Dig Dis Sci.* 37(5):689–696.

Sung JY, Shaffer EA, Olson ME, Leung JWC, Lam K, Costerton JW. 1991. Bacterial invasion of the biliary system by way of the portal-venous system. *Hepatology.* 14(2):313–317.

Sykes JE. 2014. Intra-abdominal Infections. In: *Canine and Feline Infectious Diseases.* 1st ed. USA: Missouri: Elsevier Saunders. p. 859–870.

Tamborini A, Jahns H, McAllister H, Kent A, Harris B, Procoli F, Allenspach K, Hall EJ, Day MJ, Watson PJ, et al. 2016. Bacterial Cholangitis, Cholecystitis, or both in Dogs. *J Vet Intern Med.* 30(4):1046–1055.

Timbs D V., Durham PJK, Barnsley DGC. 1974. Chronic cholecystitis in a dog infected with salmonella typhimurium. *N Z Vet J.* 22(6):100–102.

Timofte D, Dandrieux J, Wattret A, Fick J, Williams NJ. 2011. Detection of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-positive *Escherichia coli* in bile isolates from two dogs with bacterial cholangiohepatitis. *J Clin Microbiol.* 49(9):3411–3414.

Timperman SM. 2016. Digestive System. In: Colville T, Bassert JM, editors. *Clinical Anatomy and Physiology for Veterinary Technicians.* 3rd ed. USA: Missouri: Elsevier. p. 405–407.

Tsukagoshi T, Ohno K, Tsukamoto A, Fukushima K, Takahashi M, Nakashima K, Fujino Y, Tsujimoto H. 2012. Decreased gallbladder emptying in dogs with biliary sludge or gallbladder mucocele. *Vet Radiol Ultrasound.* 53(1):84–91.

Twedt DC, Cullen J, McCord K, Janeczko S, Dudak J, Simpson K. 2014. Evaluation of fluorescence in situ hybridization for the detection of bacteria in feline inflammatory liver disease. *J Feline Med Surg.* 16(2):109–117.

Vörös K, Sterczar Á, Manczur F, Gaál T. 2002. Percutaneous ultrasound-guided cholecystocentesis in dogs. *Acta Vet Hung.* 50(4):385–393.

Wagner KA, Hartmann FA, Trepanier LA. 2007. Bacterial Culture Results from Liver, Gallbladder, or Bile in 248 Dogs and Cats Evaluated for Hepatobiliary Disease: 1998-2003. *J Vet Intern Med.* 21(3):417–424.

Ward PM, Brown K, Hammond G, Parkin T, Bouyssou S, Coia M, Nurra G, Ridyard AE. 2020. Cholelithiasis in the Dog: Prevalence, Clinical Presentation, and Outcome. *J Am Anim Hosp Assoc.* 56(3):152.

Warren AL, Center S, McDonough S, Chiotti R, Goldstein R, Meseck E, Jacobsen M, Rowland P, Simpson K. 2011. Histopathologic features, immunophenotyping, clonality, and eubacterial fluorescence in situ hybridization in cats with lymphocytic cholangitis/cholangiohepatitis. *Vet Pathol.* 48(3):627–641.

Washabau RJ. 2013. Liver. In: *Canine and Feline Gastroenterology.* Saunders. p. 849–856.

Webb CB. 2017. Canine Inflammatory/Infectious Hepatic Disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Côté E, editors. *Textbook of Veterinary Internal Medicine.* 8th ed. USA: Missouri: Elsevier. p. 3983–3996.

Weiss DJ, Gagne JM, Armstrong PJ. 1996. Relationship between inflammatory hepatic disease and inflammatory bowel disease, pancreatitis, and nephritis in cats. *J Am Vet Med Assoc.* 209(6):1114–1116.

Wennogle SA, Randall EK, Priestnall SL, Twedt DC, Simpson KW. 2019. Eubacterial fluorescence in situ hybridisation and histologic features in 25 dogs with gallbladder mucocele.

J Small Anim Pract. 60(5):291–297.

Woods KS, Brisson BA, Defarges AMN, Oblak ML. 2012. Congenital duplex gallbladder and biliary mucocele associated with partial hepatic cholestasis and cholelithiasis in a cat. Can Vet J. 53(3):269–273.

Youn G, Waschak MJ, Kunkel KAR, Gerard PD. 2018. Outcome of elective cholecystectomy for the treatment of gallbladder disease in dogs. J Am Vet Med Assoc. 252(8):970–975.

Zhang H, Leung PSC, Gershwin ME, Ma X. 2018. How the biliary tree maintains immune tolerance? In: Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease. Vol. 1864. p. 1367–1373.